



PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C07K 5/06, A61K 38/05</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 98/06741</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 19. Februar 1998 (19.02.98)</p>		
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top; padding: 5px;"> <p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP97/04104</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 29. Juli 1997 (29.07.97)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 196 32 773.3 14. August 1996 (14.08.96) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BASF AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-67056 Ludwigshafen (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BAUCKE, Dorit [DE/DE]; Bellenstrasse 58, D-68163 Mannheim (DE). LANGE, Udo [DE/DE]; Sternstrasse 17, D-67063 Ludwigshafen (DE). MACK, Helmut [DE/DE]; Neustadter Ring 80, D-67067 Ludwigshafen (DE). SEITZ, Werner [DE/DE]; Bismarckstrasse 22b, D-68723 Plankstadt (DE). ZIERKE, Thomas [DE/DE]; Akazienstrasse 12, D-67459 Böhl- lggelheim (DE). HÖFFKEN, Hans, Wolfgang [DE/DE]; Dammstückerweg 37, D-67069 Ludwigshafen (DE). HORNBERGER, Wilfried [DE/DE]; Goldener Winkel 14, D-67434 Neustadt (DE).</p> <p>(74) Gemeinsamer Vertreter: BASF AKTIENGESELLSCHAFT; D-67056 Ludwigshafen (DE).</p> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top; padding: 5px;"> <p>(81) Bestimmungsstaaten: AL, AU, BG, BR, CA, CN, CZ, GE, HU, IL, JP, KR, LT, LV, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TR, UA, US, eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i></p> </td> </tr> </table>			<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP97/04104</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 29. Juli 1997 (29.07.97)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 196 32 773.3 14. August 1996 (14.08.96) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BASF AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-67056 Ludwigshafen (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BAUCKE, Dorit [DE/DE]; Bellenstrasse 58, D-68163 Mannheim (DE). LANGE, Udo [DE/DE]; Sternstrasse 17, D-67063 Ludwigshafen (DE). MACK, Helmut [DE/DE]; Neustadter Ring 80, D-67067 Ludwigshafen (DE). SEITZ, Werner [DE/DE]; Bismarckstrasse 22b, D-68723 Plankstadt (DE). ZIERKE, Thomas [DE/DE]; Akazienstrasse 12, D-67459 Böhl- lggelheim (DE). HÖFFKEN, Hans, Wolfgang [DE/DE]; Dammstückerweg 37, D-67069 Ludwigshafen (DE). HORNBERGER, Wilfried [DE/DE]; Goldener Winkel 14, D-67434 Neustadt (DE).</p> <p>(74) Gemeinsamer Vertreter: BASF AKTIENGESELLSCHAFT; D-67056 Ludwigshafen (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: AL, AU, BG, BR, CA, CN, CZ, GE, HU, IL, JP, KR, LT, LV, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TR, UA, US, eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i></p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP97/04104</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 29. Juli 1997 (29.07.97)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 196 32 773.3 14. August 1996 (14.08.96) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BASF AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-67056 Ludwigshafen (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BAUCKE, Dorit [DE/DE]; Bellenstrasse 58, D-68163 Mannheim (DE). LANGE, Udo [DE/DE]; Sternstrasse 17, D-67063 Ludwigshafen (DE). MACK, Helmut [DE/DE]; Neustadter Ring 80, D-67067 Ludwigshafen (DE). SEITZ, Werner [DE/DE]; Bismarckstrasse 22b, D-68723 Plankstadt (DE). ZIERKE, Thomas [DE/DE]; Akazienstrasse 12, D-67459 Böhl- lggelheim (DE). HÖFFKEN, Hans, Wolfgang [DE/DE]; Dammstückerweg 37, D-67069 Ludwigshafen (DE). HORNBERGER, Wilfried [DE/DE]; Goldener Winkel 14, D-67434 Neustadt (DE).</p> <p>(74) Gemeinsamer Vertreter: BASF AKTIENGESELLSCHAFT; D-67056 Ludwigshafen (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: AL, AU, BG, BR, CA, CN, CZ, GE, HU, IL, JP, KR, LT, LV, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TR, UA, US, eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i></p>			
<p>(54) Title: THROMBIN INHIBITORS</p> <p>(54) Bezeichnung: THROMBININHIBITOREN</p> <p>(57) Abstract</p> <p style="margin-left: 40px;">Compounds having formula (I) wherein A, B, E and D have the meanings indicated in the description, are described, in addition to the production thereof. The substances can be used to combat illnesses.</p> <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: space-between; margin-top: 10px;"> <div style="width: 45%;"> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p style="margin-left: 40px;">Es werden Verbindungen der Formel (I), worin A, B, E und D die in der Beschreibung angegebene Bedeutung besitzen, sowie deren Herstellung beschrieben. Die Substanzen eignen sich zur Bekämpfung von Krankheiten.</p> </div> <div style="width: 50%; text-align: center;"> $A - B - E - D - \begin{array}{c} \text{NH} \\ \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{NH}_2 \end{array} \quad (I)$ </div> </div>				

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

THROMBININHIBITOREN

Beschreibung

5

Die vorliegende Erfindung betrifft neue fünfgliedrige heterocyclische Amidine, ihre Herstellung und ihre Verwendung als kompetitive Inhibitoren von Trypsin-ähnlichen Serinproteasen, besonders Thrombin und Kininogenasen wie Kallikrein. Die Erfindung
10 bezieht sich auch auf pharmazeutische Zusammensetzungen, die die Verbindungen als aktive Bestandteile enthalten, sowie die Verwendung der Verbindungen als Thrombininhibitoren, Antikoagulantien und als antiinflammatorische Agenzien.

15 Thrombin gehört zur Gruppe der Serinproteasen und spielt als terminales Enzym in der Blutgerinnungskaskade eine zentrale Rolle. Sowohl die intrinsische als auch die extrinsische Gerinnungskaskade führen über mehrere Verstärkungsstufen zur Entstehung von Thrombin aus Prothrombin. Die thrombinkatalysierte
20 Spaltung von Fibrinogen zu Fibrin leitet dann die Blutgerinnung und die Aggregation der Thrombozyten ein, die ihrerseits durch die Bindung von Plättchenfaktor 3 und Gerinnungsfaktor XIII sowie eine ganze Reihe von hochaktiven Mediatoren die Thrombinbildung verstärken.

25

Thrombinbildung und -wirkung sind zentrale Ereignisse bei der Entstehung sowohl von weißen, arteriellen als auch von roten, venösen Thromben und daher potentiell wirksame Angriffspunkte für Pharmaka. Thrombininhibitoren sind im Gegensatz zu Heparin
30 in der Lage, unabhängig von Kofaktoren gleichzeitig die Wirkungen von freiem Thrombin als auch an Thrombozyten gebundenes vollständig zu hemmen. Sie können in der Akutphase thromboembolische Ereignisse nach perkutaner transluminaler koronarer Angioplastie (PTCA) und Lyse verhindern und als Antikoagulantien in der
35 extrakorporalen Zirkulation (Herz-Lungen-Maschine, Hämodialyse) dienen. Sie können auch allgemein zur Thromboseprophylaxe, beispielsweise nach chirurgischen Eingriffen dienen.

Es ist bekannt, daß synthetische Argininderivate die Enzym-
40 aktivität des Thrombins beeinflussen, indem sie mit dem aktiven Serinrest der Protease Thrombin in Wechselwirkung treten. Peptide auf der Basis Phe-Pro-Arg, in denen die N-terminale Aminosäure in der D-Form vorliegt, haben sich als besonders günstig erwiesen. D-Phe-Pro-Arg-isopropylester ist als kompetitiv wirkender
45 Thrombininhibitor beschrieben (C.Mattson u.a., Folia Haematol, 109, 43 bis 51, 1983).

Die Derivatisierung des C-Terminus Arginin zum Aldehyd führt zu einer Verstärkung der Inhibitorwirkung. So sind eine Vielzahl von Arginalen beschrieben, die die Hydroxylgruppe des "aktiven" Serins halbacetalisch zu binden vermögen (EP 185390, 479489, 5 526877, 542525; WO 93/15756, 93/18060).

Die thrombininhibitorische Wirksamkeit peptidischer Ketone, fluorierte Alkylketone, sowie von Ketoestern, Borsäurederivaten, Phosphorsäureestern und α -Ketocarbonsäureamiden ist ebenfalls mit dieser Serin-Wechselwirkung erklärbar (EP 118280, 195212, 362002, 10 364344, 410411, 471651, 589741, 293881, 503203, 504064, 530167; WO 92/07869, 94/08941).

Bei den von J. Oleksyszyn u.a. in J. Med. Chem. 37, 226 bis 15 231 (1994) beschriebenen peptidischen 4-Amidinophenyl-glycin-phosphonat-diphenylestern handelt es sich um irreversible Thrombininhibitoren mit unzureichender Selektivität gegenüber a deren Serinproteasen.

20 In DE 3 108 810, WO 93/11152 und EP 601 459 sind Agmatin und damit Arginin-Derivate beschrieben, die keine Wechselwirkung mit dem aktiven Serin der Serinproteasen eingehen können.

WO 94/29336, EP 0 601 459 und WO 95/23609 stellen eine Weiter- 25 entwicklung dar, wobei der Agmatin- durch einen Arylamidinrest ersetzt ist.

Kininogenasen sind Serinproteasen, die aus Kininogenen vasoaktive Peptide, die sog. Kinine (Bradykinin, Kallidin und Met-Lys- 30 bradykinin), freisetzen. Kininogene stellen multifunktionale Proteine dar, die in Kaskadenreaktionen der Gerinnung und Entzündung auftreten. Als Inhibitoren schützen sie Zellen vor der Zerstörung durch Cystein-Proteasen (Müller Esterl, 1985, FEBS Lett. 182, 310-314). Wichtige Kininogenasen sind Plasma-Kallikrein, Gewebs-Kallikrein und Mastzellen-Tryptase. 35

Kinine wie Bradykinin und Kallidin sind vasoaktive Peptide, die eine Vielzahl biologischer Prozesse beeinflussen. Sie spielen in entzündlichen Prozessen eine wesentliche Rolle. Durch Erhöhung 40 der vaskulären Permeabilität führen sie zu Hypotension und Ödemen. Weiterhin sind sie sehr potente schmerzproduzierende Antacoide und haben als zelluläre Mediatoren in der Pathophysiologie des Asthmas, der allergischen Rhinitis und der Arthritis große Bedeutung (K.D. Bhoola, C.D. Figueroa, K. Worthy, Pharmacological Reviews 1992, 44 (1), 1-80). 45

Unabhängig von den Mechanismen, die entzündlichen Prozessen zugrundeliegen, kommt es zum Austritt von Flüssigkeit aus den Blutgefäßen, die alle Protein-Systeme des zirkulierenden Blutes enthält. Das bedeutet, daß der Austritt von Plasmaflüssigkeit aus den Gefäßen in Krankheiten wie Asthma, Rhinitis und entzündungs- bedingten inneren Krankheiten eine Rolle spielt. Besonders in allergischen Prozessen wird dabei Mastzell-Tryptase freigesetzt (Salomonsson et al., Am. Rev. Respir. Dis., 1992, 146, 1535-1542).

10

Die Arginin-Chloromethylketone H-(D)-Pro-Phe-Arg-CH₂Cl und H-(D)-Phe-Phe-Arg-CH₂-Cl wurden von Kettner und Shaw als Plasma-Kallikreininhibitoren beschrieben (Biochem. 1978, 17, 4778-4784 und Meth. Enzym. 1981, 80, 826-842).

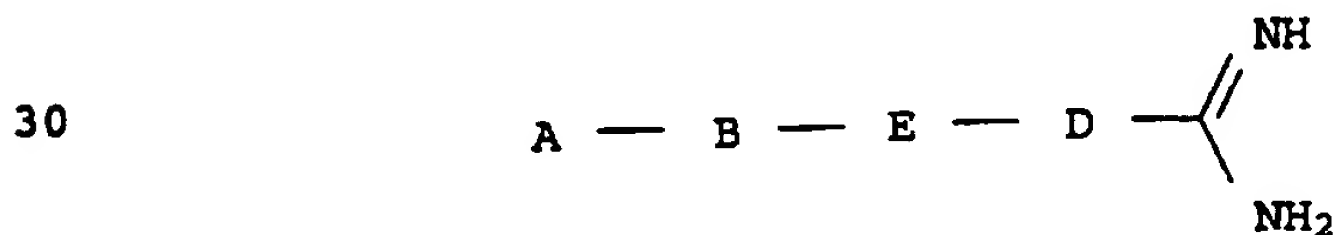
15

Verschiedene synthetische Derivate von Benzamidinen und Benzyl-aminen erwiesen sich als Inhibitoren von Plasmakallikrein, wobei die Benzamide eine wesentlich stärkere inhibitorische Wirkung aufwiesen (F. Markward, S. Drawert, P. Walsmann, Biochemical

20 Pharmacology 1974, 23, 2247-2256).

Auch PKSI-527, das Hydrochlorid von N-(trans-4-aminomethylcyclohexylcarbonyl)-L-phenylalanin-4-carboxymethyl-anilid, ist ein wirksamer Inhibitor für diese Kininogenase (Wanaka, Ohamoto et al., Thromb. Res. 1990, 57 (6), 889-895).

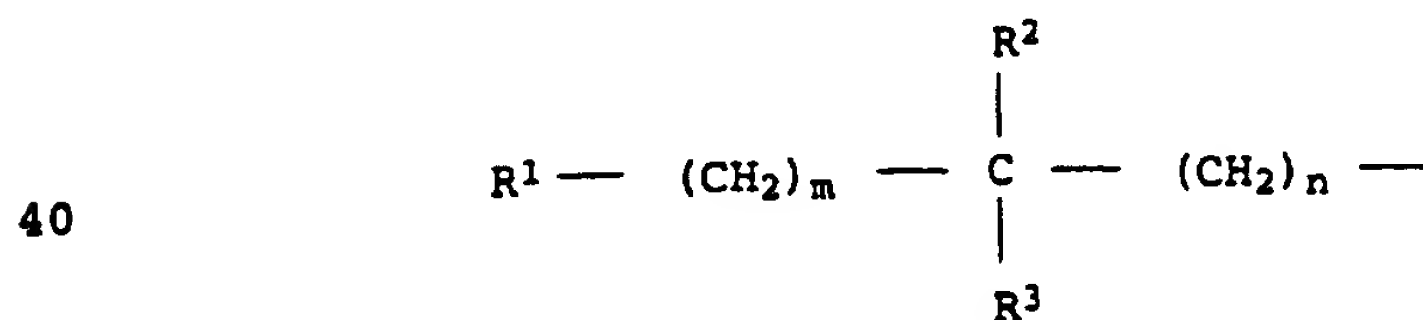
Gegenstand der Erfindung sind Verbindungen der Formel I



worin A, B, D und E folgende Bedeutung besitzen:

35

A:



worin

45 m 0, 1 oder 2,

n 0, 1 oder 2,

R¹ HOOC-, C₁₋₆-Alkyl-OOC-, Aryl-OOC oder -OH,

4

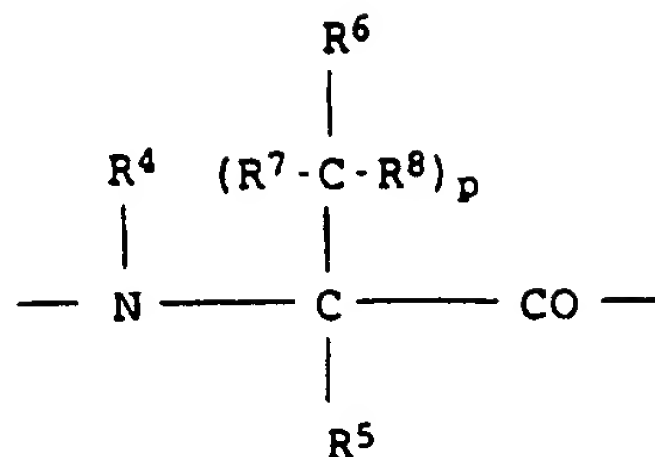
R^2 H-, C₁₋₄-Alkyl- oder R^1 -(CH₂)_m-,
 R^3 H- oder C₁₋₄-Alkyl-,

darstellen,

5

B:

10



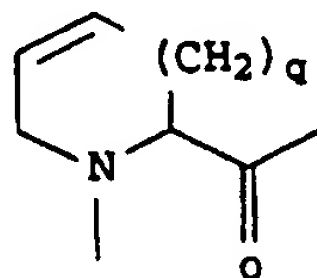
15 worin

- R^4 H-, C₁₋₄-Alkyl- oder R^1 -(CH₂)_m- (wobei R^1 und m die oben angegebene Bedeutung besitzen),
 p 0 oder 1,
 R^5 H- oder C₁₋₄-Alkyl-,
 R^6 H-, C₁₋₈-Alkyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder verschiedene Reste der Gruppe C₁₋₄-Alkyl-, CF₃-, C₁₋₄-Alkoxy-, F- oder Cl- tragen kann, C₃₋₈-Cycloalkyl-, welches bis zu vier gleiche oder verschiedene C₁₋₄-Alkylreste tragen kann oder wobei eine oder zwei C-C-Einfachbindungen im Ring durch eine C=C-Doppelbindung ersetzt sein können, oder ein Phenylring ankondensiert sein kann, C₇₋₁₂-Bicycloalkyl- oder C₁₀-Tricycloalkyl- oder
 R^4 und R^6 zusammen eine Ethylen- oder Propylengruppe,
 R^7 H, C₁₋₈-Alkyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder verschiedene Reste der Gruppe C₁₋₄-Alkyl-, CF₃-, C₁₋₄-Alkoxy-, F- oder Cl- tragen kann, C₃₋₈-Cycloalkyl-, welches bis zu vier gleiche oder verschiedene C₁₋₄-Alkylreste tragen kann,
 R^8 H oder C₁₋₄-Alkyl,

35

E:

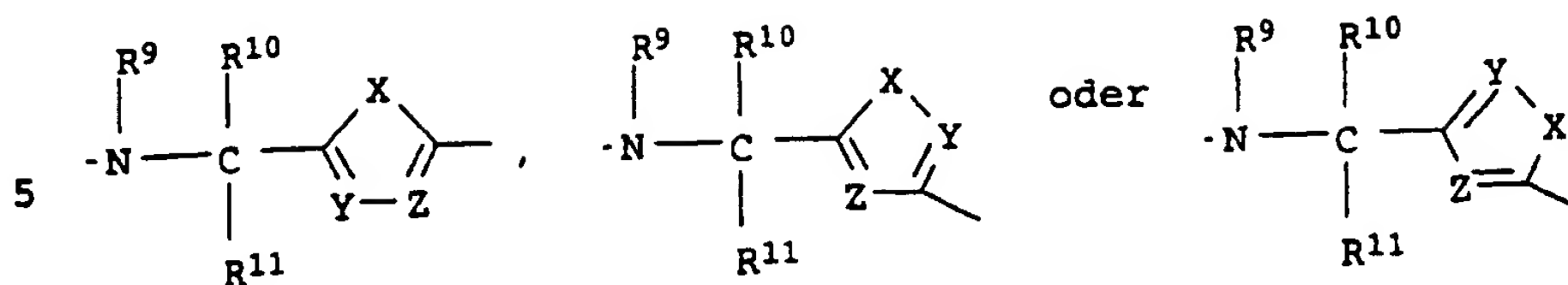
40



$q = 0$ oder 1

45

D:



worin

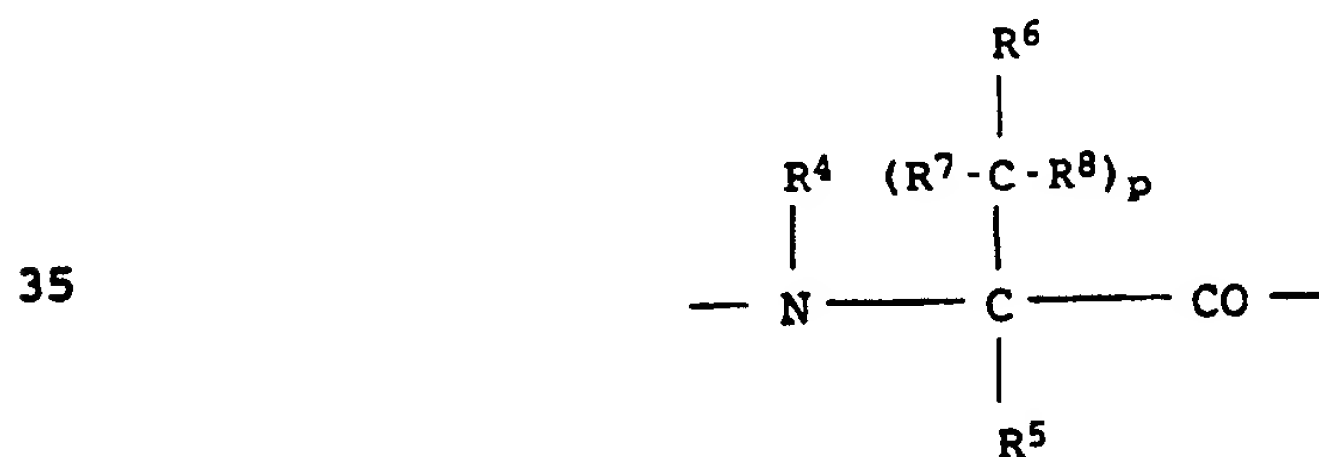
- 10 R^9 H- oder C_{1-3} -Alkyl-,
 R^{10} H- oder C_{1-4} -Alkyl-,
 R^{11} H- oder C_{1-4} -Alkyl-,
 X O, S, $-\text{NR}^{12}$ ($\text{R}^{12} = \text{H-}, \text{C}_{1-6}$ -Alkyl-),
 Y $-\text{N=}$ oder $-\text{CR}^{13}=$ ($\text{R}^{13} = \text{H-}, \text{C}_{1-4}$ -Alkyl-, Cl, CF_3),
15 Z $-\text{N=}$ oder $-\text{CR}^{13}=$ bedeuten,
sowie deren Salze mit physiologisch verträglichen Säuren.

Die durch B dargestellten Aminosäurederivate sind vorzugsweise
(D)-konfiguriert, das 3,4-Dehydroprolin bzw. die 4,5-Dehydro-
20 pipecolinsäure (L)-konfiguriert.

Bevorzugt sind Verbindungen der Formel I, worin die Gruppen A bis
E folgende Bedeutung besitzen:

- 25 A
 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_t-$ ($t = 1, 2$ oder 3), $(\text{HOOC}-\text{CH}_2)_2-\text{CH-}$, $(\text{HO}-\text{CH}_2)_2\text{CH-}$,
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{COOH})-$, $\text{HOOC}-\text{CH}(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH})-$, $\text{HOOC}-\text{CH}(\text{C}_{1-4}\text{-Alkyl})-$,
 $\text{HOOC}-\text{C}(\text{C}_{1-4}\text{-Alkyl})_2-$, $\text{C}_{1-4}\text{-Alkyl}-\text{OOC}-(\text{CH}_2)_t-$,

30 B



- 40 p 0, 1,
 R^4 H-, C_{1-4} -Alkyl- oder $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-$ ($m = 1, 2$ oder 3),
 R^5 H-, Methyl-
 R^6 H-, C_{1-8} -Alkyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder
verschiedene Reste der Gruppe CH_3- , CF_3- , $\text{CH}_3\text{-O-}$, F- oder Cl-
45 tragen kann, C_{3-8} -Cycloalkyl-, welches bis zu vier Methylreste

tragen kann, Cyclohexa-1,4-dienyl-, Bicyclo[2.2.2]-octyl-,
Bicyclo[2.2.1]-heptyl-, Norbornyl-, Adamantyl-, Indanyl-,
Decalinyll-,

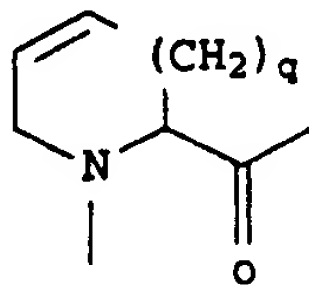
5 R^7 H, C_{1-8} -Alkyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder
verschiedene Reste der Gruppe CH_3 -, CF_3 -, CH_3O -, F- oder Cl-
tragen kann, C_{3-8} -Cycloalkyl-, welches bis zu vier Methylreste
tragen kann,

R^8 H, C_{1-4} -Alkyl,

10 (Der Baustein B ist vorzugsweise D-konfiguriert),

E

15



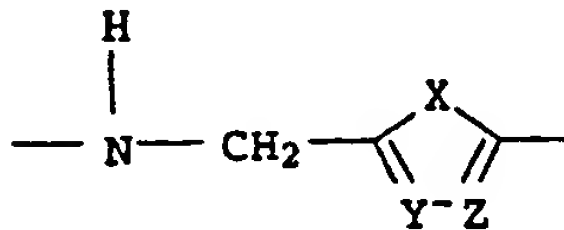
q 0, 1

20

(Der Baustein E ist vorzugsweise L-konfiguriert),

D

25



mit

30 $X = S, O, NH, NCH_3, NC_2H_5,$
 $Y = CH, C-CH_3, C-Cl, C-CF_3$ und
 $Z = CH, C-CH_3, C-Cl, C-CF_3$

oder $X = S, O, NH, N-CH_3$ $Y = N$

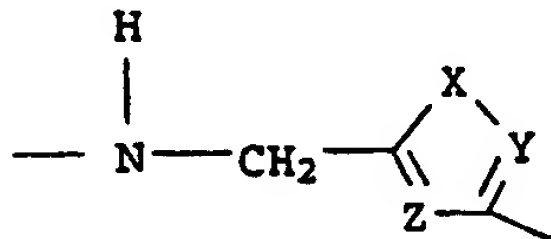
$Z = CH, C-CH_3, C-CF_3$

35 oder $X = S, O, NH, N-CH_3$ $Y = CH, C-CH_3, C-CF_3$ $Z = N$

oder $X = S, O, NH, N-CH_3$ $Y = N$

$Z = N$

40



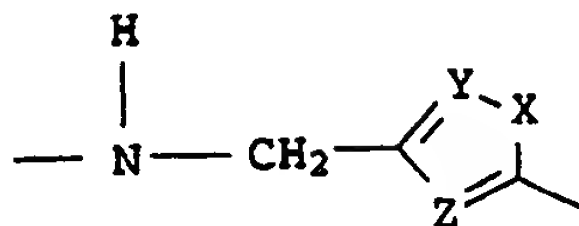
mit

45 $X = S, O, NH, NCH_3, NC_2H_5,$
 $Y = CH, C-CH_3, C-CF_3$ und
 $Z = CH, C-CH_3, C-CF_3, C-Cl$

7

- oder $X = O, NH, NCH_3$ $Y = N$ $Z = CH, C-CH_3, C-CF_3$
- oder $X = O, S, NH, NCH_3$ $Y = CH, C-CH_3, C-CF_3$ $Z = N$
- 5 oder $X = O, S, NH, NCH_3$ $Y = Z = N$

10



mit

- $X = S, O, NH, NCH_3, NC_2H_5,$
- $Y = CH, C-CH_3, C-CF_3$ und
- 15 $Z = CH, C-CH_3, C-CF_3, C-Cl$

- oder $X = O, NH, NCH_3$ $Y = N$ $Z = CH, C-CH_3, C-CF_3, C-Cl$
- oder $X = O, S, NH, NCH_3$ $Y = CH, C-CH_3, C-CF_3$ $Z = N$
- 20 oder $X = O, NH, NCH_3$ $Y = Z = N.$

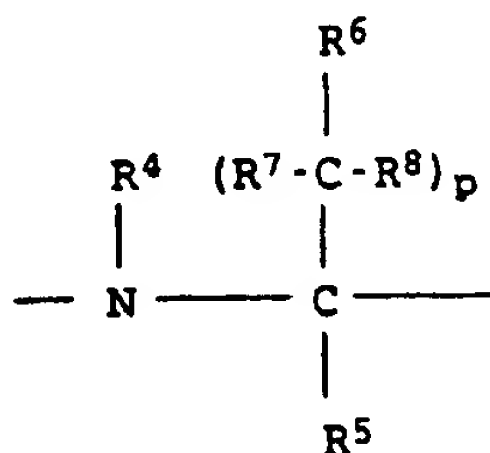
Besonders bevorzugt sind Verbindungen der Formel I, in denen A, B, D und E folgende Bedeutung besitzen

25

A $HOOC-CH_2, HOOC-CH_2-CH_2, HOOC-CH(CH_3), HOOC-CH(C_2H_5)$

B

30

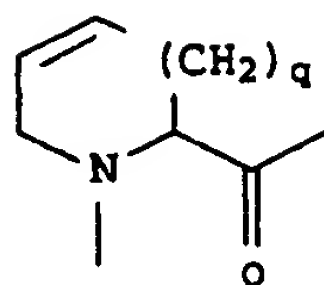


35

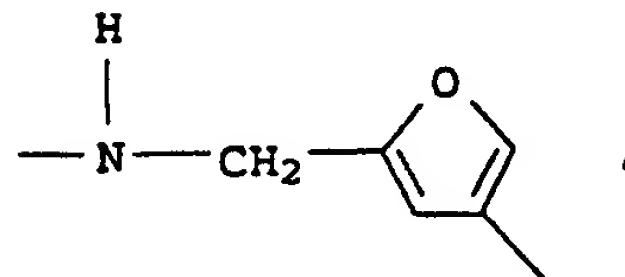
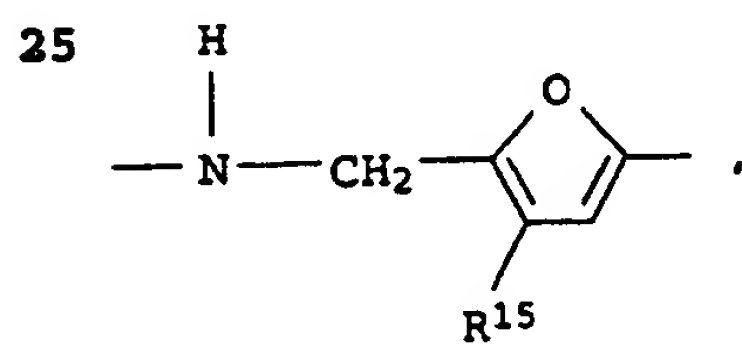
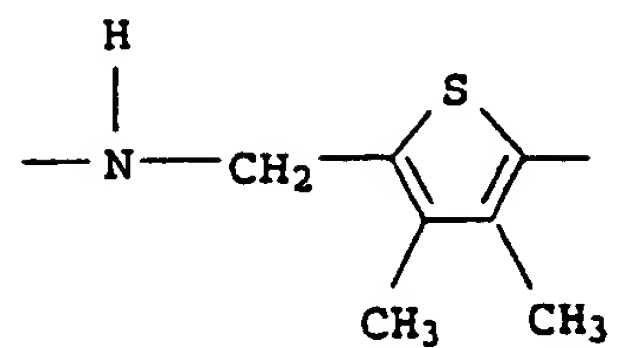
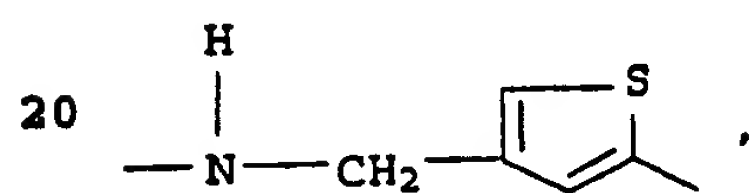
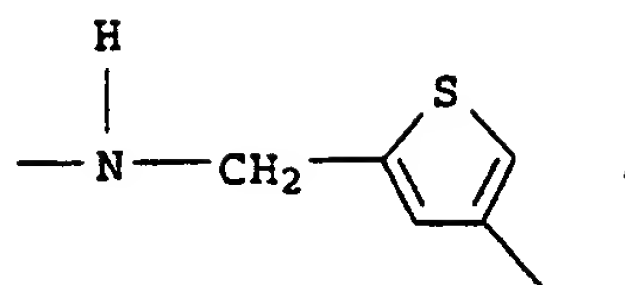
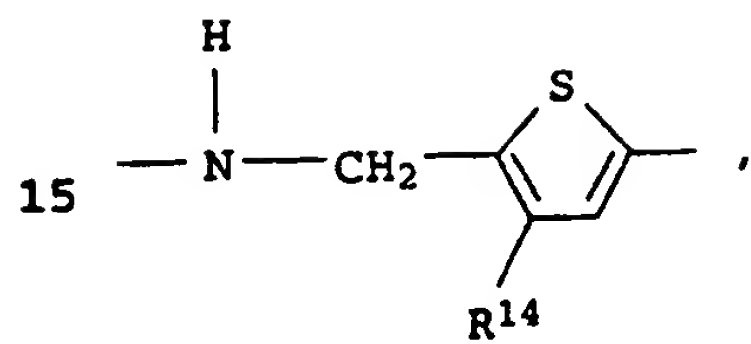
- $p = 0, 1,$
- $R^4 = H-, CH_3-$
- $R^5 = H-, CH_3-,$
- 40 $R^6 = C_{1-8}\text{-Alkyl-}, C_{5-8}\text{-Cycloalkyl-},$ welches bis zu vier Methylreste tragen kann, Bicyclo[2.2.2]octyl, Bicyclo[2.2.1]heptyl, Norbornyl, Adamantyl, Indanyl, Decalinyll, wobei Cyclopentyl-, Cyclohexyl- und Cycloheptyl- besonders bevorzugt sind,
- $R^7 = H, CH_3-,$
- 45 $R^8 = H, CH_3-,$

E

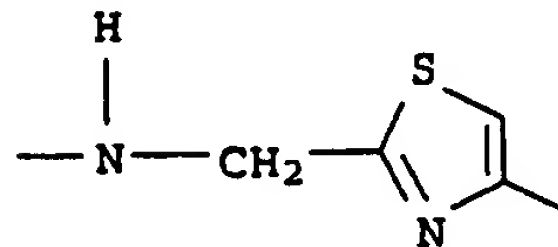
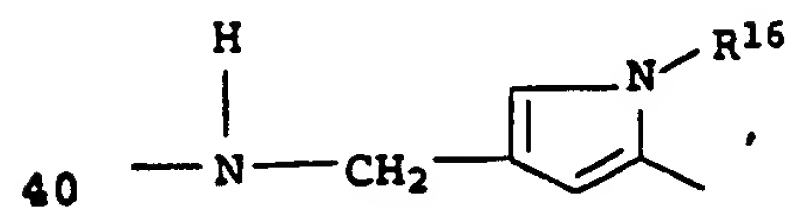
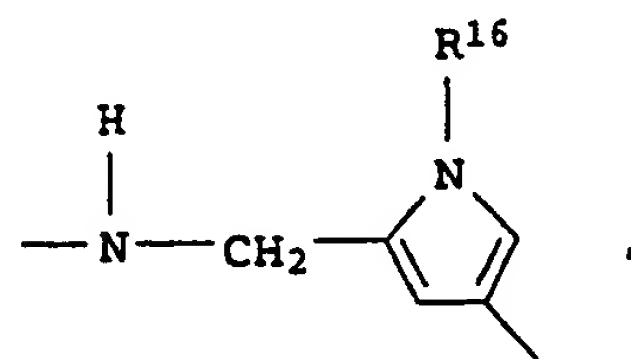
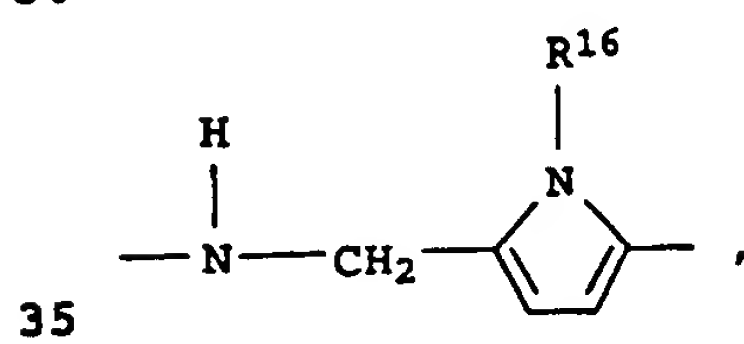
5



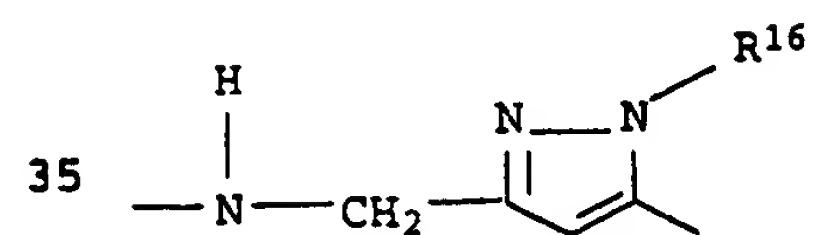
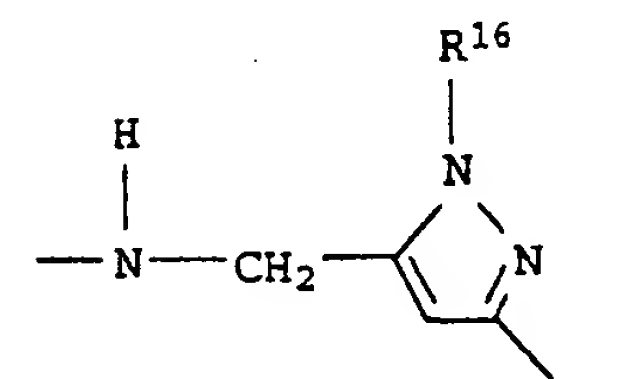
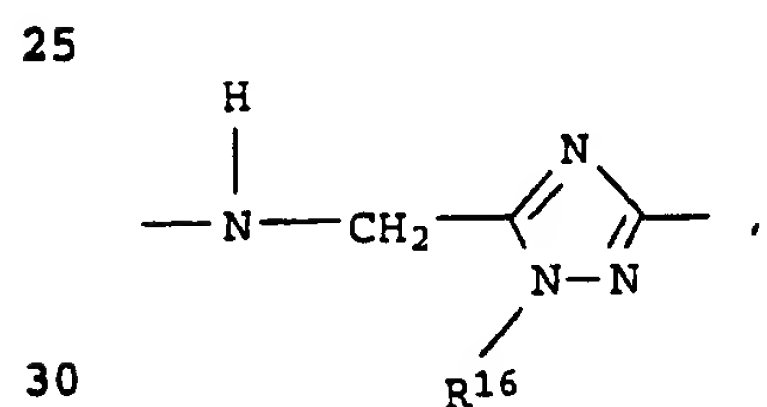
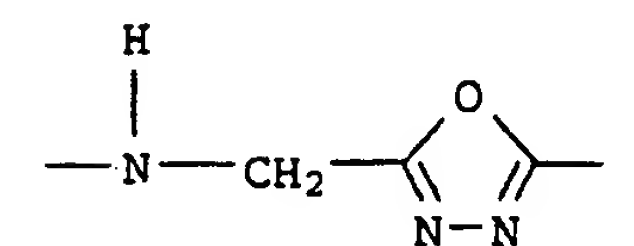
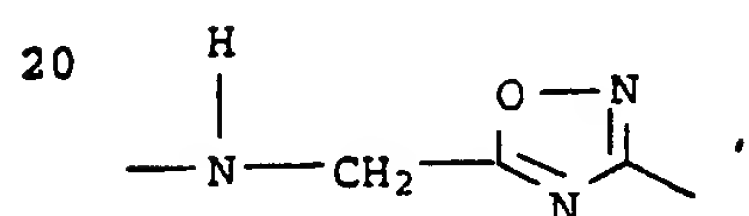
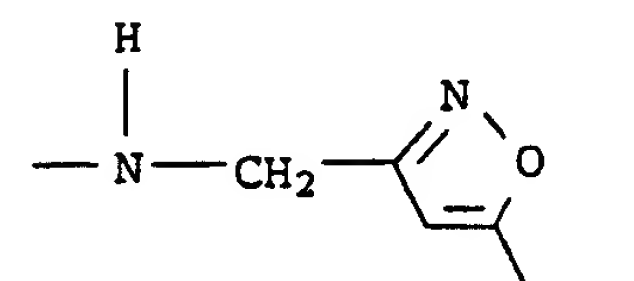
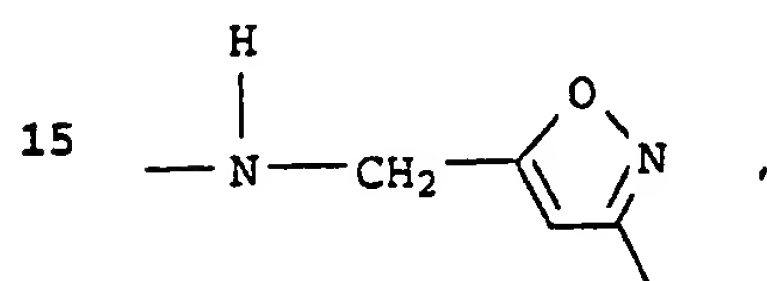
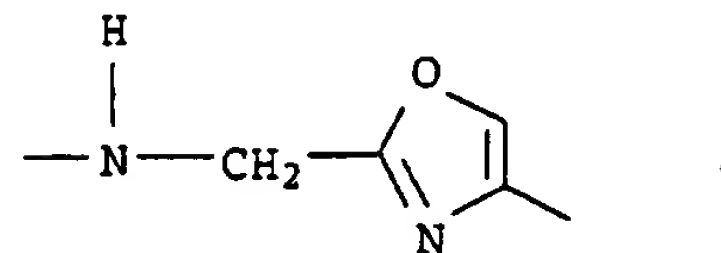
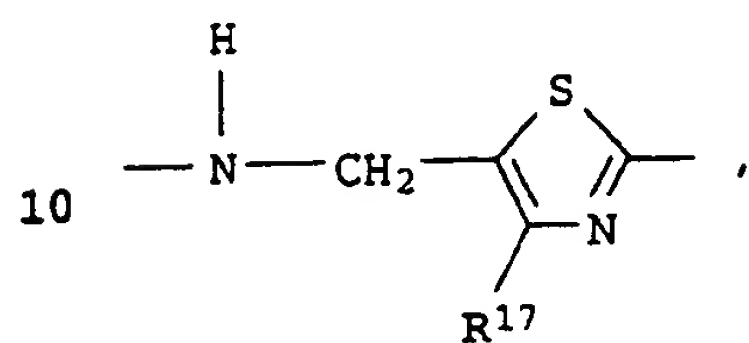
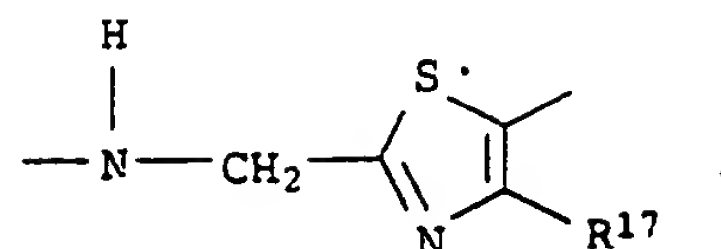
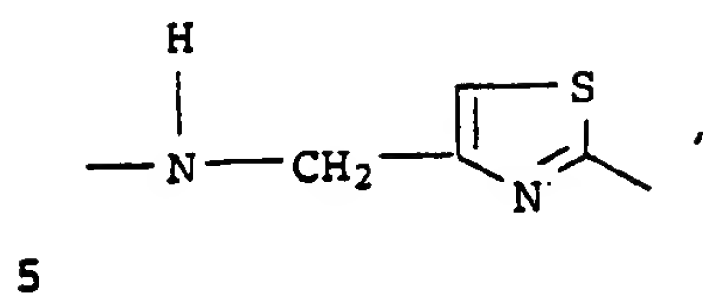
q 0, 1
10
D



30



45



mit

R¹⁴: H, CH₃, Cl, CF₃, vorzugsweise H40 R¹⁵: H, Cl, CF₃, vorzugsweise HR¹⁶: H, CH₃, C₂H₅, vorzugsweise CH₃R¹⁷: H, CH₃, CF₃, vorzugsweise H, CH₃

45

- HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-4-(1-Me-2-am)-pyrr
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Dep-NH-CH₂-4-(1-Me-2-am)-pyrr
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(1-Me-3-am)-pyrr
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Dep-NH-CH₂-5-(1-Me-3-am)-pyrr
 5 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(2-am-3,4-Me₂)-thioph
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(2-am-3-Me)-thioph
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(2-am-4-Me)-thioph
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(2-am-3-Me)-fur
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(2-am-4-Me)-fur
 10 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(3-am-2-Me)-fur
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-2-(4-am)-thiaz
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-4-(2-am)-thiaz
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(2-am)-thiaz
 15 HOOC-CH₂-(D)Chg-Pyr-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
 HOOC-CH₂-(D)Chg-Pyr-NH-CH₂-2-(4-am)-thiaz
 HOOC-CH₂-(D)Chg-Pyr-NH-CH₂-4-(2-am)-thiaz
 HOOC-CH₂-(D)Chg-Pyr-NH-CH₂-5-(2-am)-thiaz
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Dep-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
 20 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-2-(4-am)-oxaz
 HOOC-CH₂-(D)Chg-Pyr-NH-CH₂-2-(4-am)-oxaz
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(3-am-1-Me)-pyraz
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-3-(5-am)-1,2,4-oxadiaz
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(3-am)-1,2,4-oxadiaz
 25 HOOC-CH₂-(D)Chg-Pyr-NH-CH₂-5-(3-am)-1,2,4-oxadiaz
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(3-am-1-Me)-1,2,4-triaz
 HOOC-CH₂-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
 HOOC-CH₂-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(2-am)-fur
 HOOC-CH₂-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(1-Me-2-am)-pyrr
 30 (HOOC-CH₂)₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
 (HOOC-CH₂)₂CH-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
 HOOC-CH₂-(D)Chg-Pyr-NH-CH₂-5-(2-am)-1,3,4-thiadaz
 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(2-am)-1,3,4-thiadaz
 HOOC-CH₂-(D)Chg-Pyr-NH-CH₂-5-(2-am)-1,3,4-oxadiaz
 35 HOOC-CH₂-(D)Cha-Pyr-NH-CH₂-5-(2-am)-1,3,4-oxadiaz

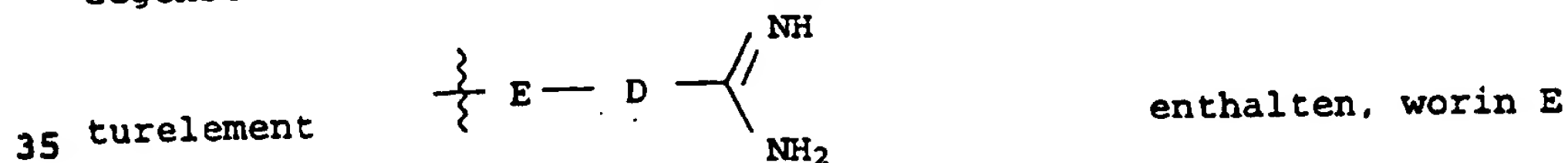
Abkürzungsliste:

- | | |
|------------|-----------------------|
| Adaala: | Adamantylalanin |
| 40 Adagly: | Adamantylglycin |
| AIBN: | Azobisisobutyronitril |
| Ac: | Acetyl |
| Ala: | Alanin |
| am: | Amidino |
| 45 Asp: | Asparaginsäure |
| Aze: | Azetidincarbonsäure |
| Bn: | Benzyl |

Boc:	tert. Butyloxycarbonyl
Bu:	Butyl
Cbz:	Benzyloxycarbonyl
Cha:	Cyclohexylalanin
5 Chea:	Cycloheptylalanin
Cheg:	Cycloheptylglycin
Chg:	Cyclohexylglycin
Cog:	Cyclooctylglycin
Cpa:	Cyclopentylalanin
10 Cpg:	Cyclopentylglycin
DC:	Dünnschichtchromatographie
DCC:	Dicyclohexylcarbodiimid
Dch:	Dicyclohexylalanin
Dcha:	Dicyclohexylamin
15 DCM:	Dichlormethan
Dep:	4,5-Dehydropipecolinsäure
DMF:	Dimethylformamid
DIPEA:	Diisopropylethylamin
Dpa:	Diphenylalanin
20 Diphe:	2,5-Dihydrophenylalanin
Et:	Ethyl
Eq:	Äquivalente
Gly:	Glycin
fur:	Furan
25 ham:	Hydroxyamidino
HOSucc:	Hydroxysuccinimid
HPLC:	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
Hyp:	Hydroxyprolin
imi:	Imidazol
30 2-Ind:	2-Dihydroindolcarbonsäure
iPr:	iso-Propyl
Leu:	Leucin
Lsg:	Lösung
Me:	Methyl
35 α -MeCha:	α -Methylcyclohexylalanin
$\beta\beta$ -Me ₂ Cha:	2-Amino-3-cyclohexyl-3-methyl-buttersäure oder $\beta\beta$ -Dimethylcyclohexylalanin
4-MeCha:	(4-Methylcyclohex-1-yl)alanin
γ -MeCha:	(1-Methylcyclohex-1-yl)alanin
40 3,3-Me ₂ Cha:	(3,3-Dimethylcyclohex-1-yl)alanin
4-MeChg:	(4-Methylcyhex-1-yl)glycin
3,3-Me ₂ Chg:	(3,3-Dimethylcyclohex-1-yl)-glycin
MPLC:	Mitteldruckflüssigkeitschromatographie
MTBE:	Methyl-tert.-butyl-ether
45 NBS:	N-Bromsuccinimid
Nog:	Norbornylglycin
Oxadiaz:	1,2,4-Oxadiazol

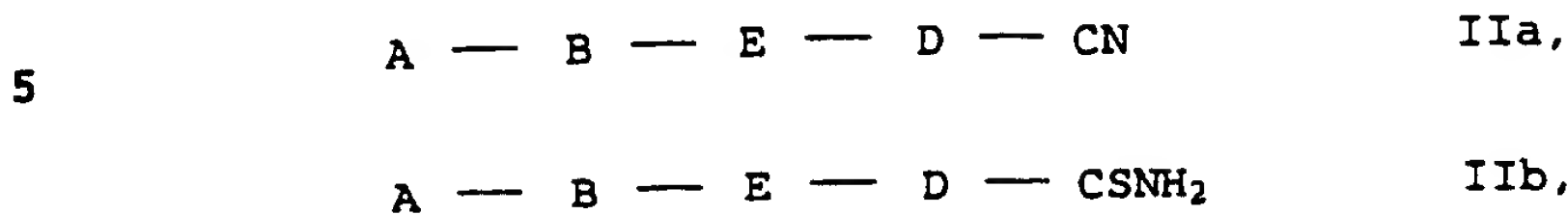
	Oxaz:	Oxazol
	Ph:	Phenyl
	Phe:	Phenylalanin
	2Phi:	2-Perhydroindolcarbonsäure
5	Pic:	Pipecolinsäure
	pico:	picolyl
	pim:	piperidinylmethyl
	PPA:	Propylphosphonsäureanhydrid
	Pro:	Prolin
10	Py:	Pyridin
	Pyr:	3,4-Dehydroprolin
	pyraz:	Pyrazol
	pyrr:	Pyrrol
	RT:	Raumtemperatur
15	RP-18	Reversed Phase C-18
	t:	tertiär
	tBu:	tertiär-Butyl
	tert:	tertiär
	TBAB:	Tetrabutylammoniumbromid
20	TEA:	Triethylamin
	TFA:	Trifluoressigsäure
	TFFA:	Trifluoressigsäureanhydrid
	thiaz:	Thiazol
	thioph:	Thiophen
25	1Tic:	1-Tetrahydroisochinolincarbonsäure
	3Tic:	3-Tetrahydroisochinolincarbonsäure
	TOTU:	O- (Cyan-ethoxycarbonylmethylen) -amino-] - N,N,N',N' -tetramethyluroniumtetrafluoroborat
	triaz:	1,3,4-Triazol
30	Z:	Benzyloxycarbonyl

Gegenstand der Erfindung sind weiter Verbindungen, die das Struk-



und D die oben angegebene Bedeutung besitzen und sich am Stickstoffatom von Baustein E ein Wasserstoffatom, eine Schutzgruppe, eine gegebenenfalls substituierte natürliche oder unnatürliche
 40 Aminosäure, eine gegebenenfalls substituierte Carbonsäure oder Sulfonsäure oder ein gegebenenfalls substituierter Alkylrest befindet. Das Strukturfragment ist als Bestandteil von Serinprotease-Inhibitoren und insbesondere von Thrombin- und Kallikreininhibitoren wertvoll.

Gegenstand der Erfindung sind weiter die Zwischenprodukte der Formel IIa und IIb



10 worin A, B, E und D die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung besitzen.

Die neuen Zwischenprodukte dienen zur Herstellung der Verbindungen I und sind wertvolle Bausteine für die Synthese von
15 Serinprotease-Inhibitoren.

Die Verbindungen der Formel I können als solche oder in Form ihrer Salze mit physiologisch verträglichen Säuren vorliegen. Beispiele für solche Säuren sind: Salzsäure, Zitronensäure, Weinsäure, Milchsäure, Phosphorsäure, Methansulfonsäure, Essigsäure,
20 Ameisensäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Bernsteinsäure, Hydroxybernsteinsäure, Schwefelsäure, Glutarsäure, Asparaginsäure, Brenztraubensäure, Benzoessäure, Glucuronsäure, Oxalsäure, Ascorbinsäure und Acetylglycin.

25 Die neuen Verbindungen der Formel I lassen sich bei folgenden Indikationen einsetzen:

- 30 - Krankheiten, deren Pathomechanismus direkt oder indirekt auf der proteolytischen Wirkung von Thrombin beruht,
- Krankheiten, deren Pathomechanismus auf der thrombinabhängigen Aktivierung von Rezeptoren und Signaltransduktionen beruht,
- 35 - Krankheiten, die mit Stimulation [z.B. durch PAI-1, PDGF (platelet derived growth factor), P-Selectin, ICAM-1, Tissue Factor] oder Inhibition (z.B. NO-Synthese in Glattmuskelzellen) von Genexpressionen in Körperzellen einhergehen,
- 40 - Krankheiten, die auf der mitogenen Wirkung von Thrombin beruhen,
- 45 - Krankheiten, die auf einer thrombinabhängigen Kontraktilitäts- und Permeabilitätsveränderung von Epithelzellen (z.B. Gefäßendothelzellen) beruhen,

- thrombinabhängige, thromboembolische Ereignisse wie tiefe Venenthrombose, Lungenembolie, Myocard- oder Cerebralinfarkt, Vorhofflimmern, Bypassverschluß,
- 5 - disseminierte intravasale Koagulation (DIC),
- Reokklusion und zur Verkürzung der Reperfusionszeit bei Komedikation mit Thrombolytika wie Streptokinase, Urokinase, Prourokinase, t-PA, APSAC, Plasminogenaktivatoren aus den
- 10 Speicheldrüsen von Tieren sowie die rekombinanten und mutierten Formen all dieser Substanzen,
- das Auftreten von früher Reokklusion und später Restenosierung nach PTCA,
- 15 - die thrombinabhängige Proliferation von Glattmuskelzellen,
- die Akkumulation aktiven Thrombins im ZNS (z.B. bei M. Alzheimer),
- 20 - das Tumorwachstum sowie gegen die Adhäsion und Metastasierung von Tumorzellen.

Insbesondere lassen sich die neuen Verbindungen zur Therapie und

25 Prophylaxe von thrombinabhängigen thromboembolischen Ereignissen wie tiefen Venenthrombosen, Lungenembolien, Myocard- oder Cerebralinfarkten und instabiler Angina, weiterhin zur Therapie der Disseminierten Intravasalen Koagulation (DIC) einsetzen. Weiter eignen sie sich zur Kombinationstherapie mit Thrombolytika wie

30 Streptokinase, Urokinase, Prourokinase, t-PA, APSAC und anderen Plasminogenaktivatoren zur Verkürzung der Reperfusionszeit und Verlängerung der Reokklusionszeit.

Weitere bevorzugte Anwendungsgebiete sind die Verhinderung

35 thrombinabhängiger früher Reokklusion und später Restenosierung nach perkutaner transluminaler koronarer Angioplastie, die Verhinderung thrombininduzierter Proliferation glatter Muskelzellen, die Verhinderung der Akkumulation aktiven Thrombins im ZNS (z.B. bei M. Alzheimer), die Tumorbekämpfung und die Verhinderung von

40 Mechanismen, die zu Adhäsion und Metastasierung von Tumorzellen führen.

Die neuen Verbindungen lassen sich auch zur Beschichtung von künstlichen Oberflächen wie Hämodialysemembranen und den dazu

45 erforderlichen Schlauchsystemen und Leitungen sowie von Oxy-

genatoren der extravasalen Zirkulation, Stents und Herzklappen verwenden.

Die neuen Verbindungen lassen sich weiter bei Krankheiten einsetzen, deren Pathomechanismus direkt oder indirekt auf der proteolytischen Wirkung von Kininogenasen, insbesondere Kallikrein beruht z.B. bei Entzündungskrankheiten wie Asthma, Pankreatitis, Rhinitis, Arthritis, Urticaria und anderen inneren Entzündungskrankheiten.

10

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in üblicher Weise oral oder parenteral (subkutan, intravenös, intramuskulär, intraperitoneal, rektal) verabfolgt werden. Die Applikation kann auch mit Dämpfen oder Sprays durch den Nasen-Rachenraum erfolgen.

15

Die Dosierung hängt vom Alter, Zustand und Gewicht des Patienten sowie von der Applikationsart ab. In der Regel beträgt die tägliche Wirkstoffdosis pro Person zwischen etwa 10 und 2000 mg bei oraler Gabe und zwischen etwa 1 und 200 mg bei parenteraler Gabe.

20 Diese Dosis kann in 2 bis 4 Einzeldosen oder einmalig am Tag als Depotform gegeben werden.

Die neuen Verbindungen können in den gebräuchlichen galenischen Applikationsformen fest oder flüssig angewendet werden, z.B. als
25 Tabletten, Filmtabletten, Kapseln, Pulver, Granulate, Dragees, Suppositorien, Lösungen, Salben, Cremes oder Sprays. Diese werden in üblicher Weise hergestellt. Die Wirkstoffe können dabei mit den üblichen galenischen Hilfsmitteln wie Tablettenbindern, Füllstoffen, Konservierungsmitteln, Tablettensprengmitteln, Fließregulierungsmitteln, Weichmachern, Netzmitteln, Dispergiermitteln,
30 Emulgatoren, Lösungsmitteln, Retardierungsmitteln, Antioxidantien und/oder Treibgasen verarbeitet werden (vgl. H. Sucker et al.: Pharmazeutische Technologie, Thieme-Verlag, Stuttgart, 1978). Die so erhaltenen Applikationsformen enthalten den Wirkstoff
35 normalerweise in einer Menge von 0,1 bis 99 Gew.-%.

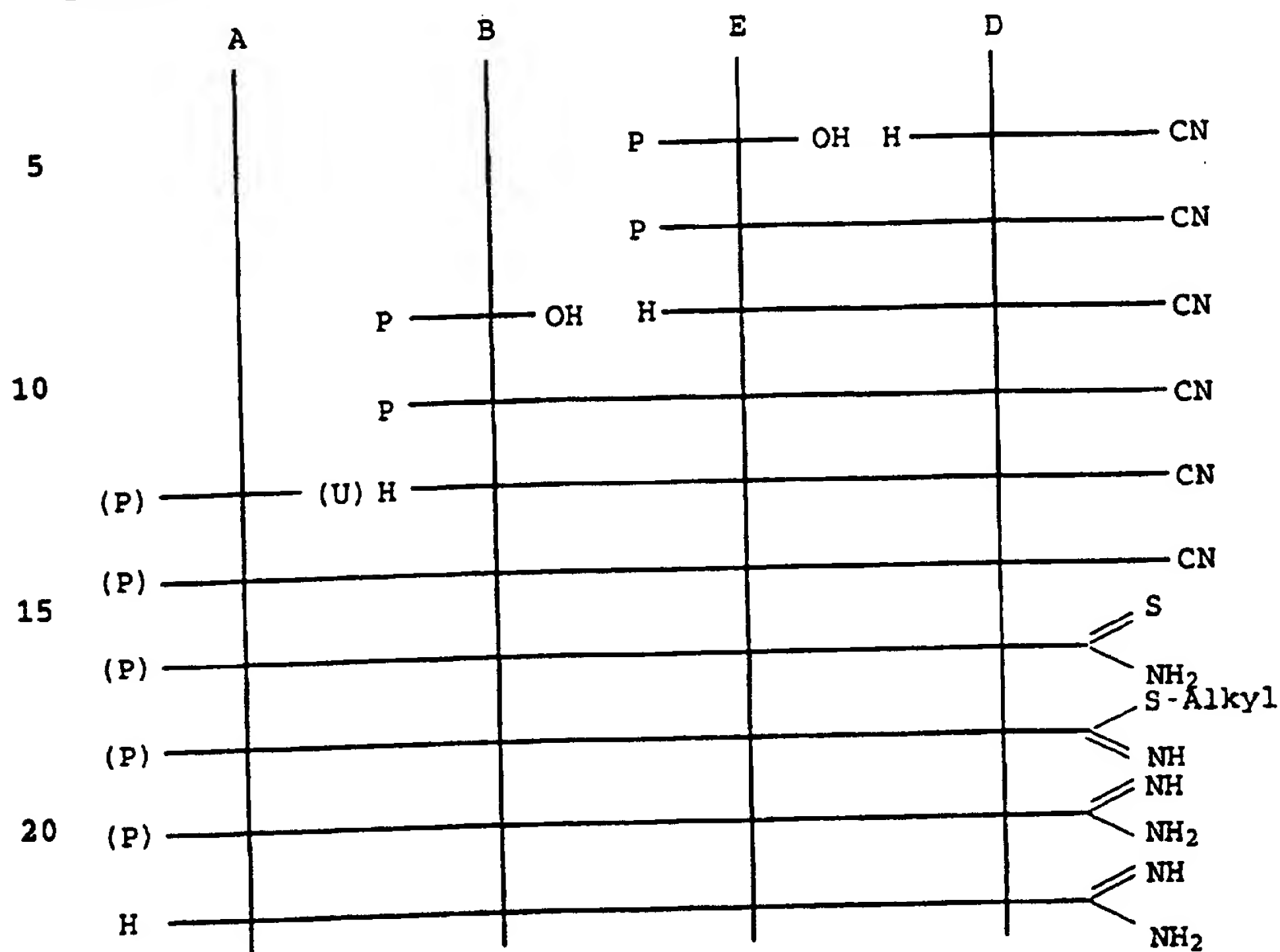
Experimenteller Teil

Die Verbindungen der Formel I lassen sich entsprechend Schemata
40 I-III darstellen.

Die Bausteine A, B, E und D werden vorzugsweise vorher separat aufgebaut und in geeignet geschützter Form (siehe Schema I-III) eingesetzt.

45

Schema I



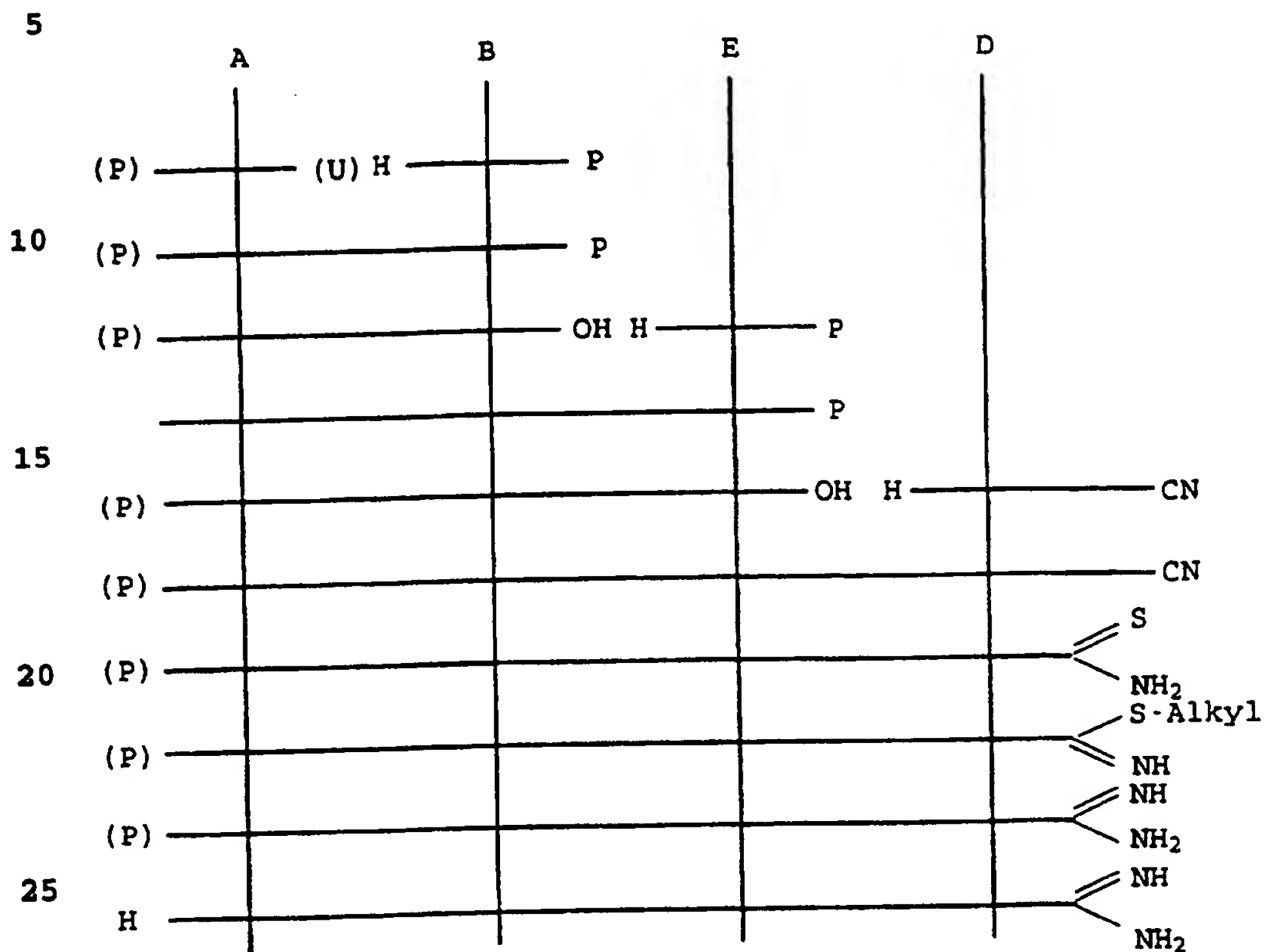
25 (P = Schutzgruppe, (P) = Schutzgruppe oder H)

Schema I beschreibt den linearen Aufbau des Moleküls I durch Kupplung des Amins H-D-CN mit der N-geschützten Aminosäure P-E-OH zu P-E-D-CN, Abspaltung der N-terminalen Schutzgruppe zu H-E-D-CN, Kupplung mit der N-geschützten Aminosäure P-B-OH zu P-B-E-D-CN, Abspaltung der Schutzgruppe P zu H-B-E-D-CN, anschließende Alkylierung mit dem gegebenenfalls geschützten (P)-A-U-Baustein (U = Abgangsgruppe) oder reduktive Alkylierung mit (P)-A'-U (U = Aldehyd, Keton) oder Michael-Addition mit einem geeigneten (P)-A''-C=C-Derivat zu (P)-A-B-E-D-CN. Die Umwandlung der Nitrilfunktion in die Amidgruppe erfolgt entweder über die klassische Pinner-Synthese (R. Boder, D.G. Neilson, Chem. Rev. 1962, 61, 179) oder über eine modifizierte Pinner-Synthese, die über Iminothioestersalze als Zwischenstufe abläuft (H. Vieweg et al., Pharmazie 1984, 39, 226) oder direkt nach der Methode von A. Eschenmoser Helv. Chimica Acta 69 (1986) 1224. Anschließend werden im Molekül noch vorhandene Schutzgruppen vorzugsweise durch saure Hydrolyse abgespalten.

45 Wird der Baustein D als H-D-CONH₂ in der Synthese eingebaut, so erfolgt auf einer der geschützten Zwischenstufen die Dehydratisierung der Amid- zur Nitrilfunktion oder die Umwandlung in die

Thioamidfunktionen. Alternativ dazu kann der Baustein D als H-D-CSNH₂ in die Synthese eingesetzt werden.

Schema II

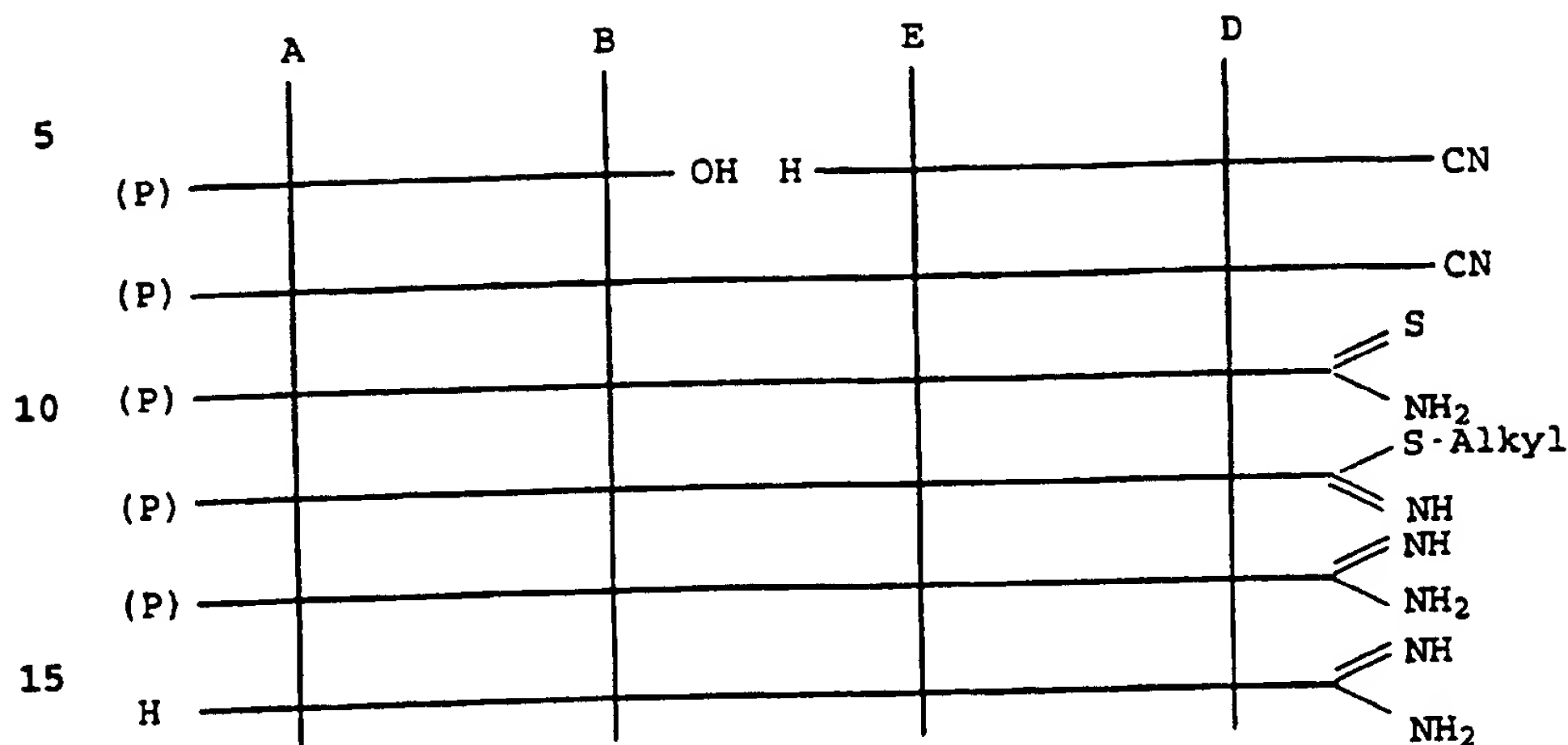


Schema II beschreibt den linearen Aufbau des Moleküls I durch
 30 Alkylierung, reduktive Animerung oder Michael-Addition von H-B-P
 an entsprechend geeignete gegebenenfalls geschützte A-Bausteine
 zu (P)-A-B-P, Abspaltung der C-terminalen Schutzgruppe zu
 (P)-A-B-OH, Kupplung ist H-E-P zu (P)-A-B-E-P, Abspaltung der
 C-terminalen Schutzgruppe zu (P)-A-B-E-OH, Kupplung mit H-D-CN
 35 zu (P)-A-E-C-D-CN und Umsetzung dieses Zwischenprodukts zum
 Endprodukt analog Schema I.

Bei Verbindungen (P)-A-B-P mit noch freier NH-Funktion an B muß
 diese vor Abspaltung der C-terminalen Schutzgruppe noch mit einer
 40 geeigneten Schutzgruppe versehen werden. Die jeweils verwendeten
 Schutzgruppen müssen orthogonal zueinander sein.

Alternativ zum H-D-CN-Baustein kann auch H-D-CONH₂, H-D-CSNH₂,
 H-D-C(NH)NH₂, H-D-C(NP)NH₂, H-D-C(NP)NHP eingesetzt werden, wobei
 45 im ersten Fall das gekoppelte Zwischenprodukt (P)-A-B-E-D-CONH₂
 zu (P)-A-B-E-D-CN dehydratisiert oder direkt in (P)-A-B-E-D-CSNH₂
 umgewandelt wird.

Schema III



Schema III beschreibt einen sehr effizienten Weg zur Darstellung
 20 der Verbindungen I durch eine konvergente Synthese. Die ent-
 sprechend geschützten Bausteine (P)-A-B-OH und H-E-D-CN werden
 miteinander gekuppelt und das entstandene Zwischenprodukt
 (P)-A-B-E-D-CN analog Schema I zum Endprodukt umgesetzt.

25 Alternativ zu H-E-D-CN kann auch H-E-D-CONH₂ oder H-E-D-CSNH₂
 eingesetzt werden, wobei im ersten Fall das gekoppelte Zwischen-
 produkt (P)-A-B-E-D-CONH₂ zu (P)-A-B-E-D-CN dehydratisiert oder
 in (P)-A-B-E-D-CSNH₂ überführt wird.

30 Als N-terminale Schutzgruppen werden Boc, Cbz oder Fmoc, vorzugs-
 weise Boc eingesetzt, C-terminale Schutzgruppen sind Methyl,
 tert.-Butyl und Benzyl. Sind mehrere Schutzgruppen im Molekül
 vorhanden, so müssen diese orthogonal zueinander sein, wenn sie
 nicht gleichzeitig abgespalten werden sollen. Enthalten die
 35 Zwischenprodukte den Baustein E, sind Cbz- und Benzylschutz-
 gruppen ungeeignet.

Die erforderlichen Kupplungsreaktionen sowie die üblichen Reak-
 tionen der Schutzgruppeneinführung und -abspaltung werden nach
 40 Standardbedingungen der Peptidchemie durchgeführt (siehe
 M. Bodanszky, A. Bodanszky "The Practice of Peptide Synthesis",
 2. Auflage, Springer Verlag Heidelberg, 1994).

Boc-Schutzgruppen werden mittels Dioxan/HCl oder TFA/DCM, Cbz-
 45 Schutzgruppen hydrogenolytisch oder mit HF abgespalten. Die Ver-
 seifung von Esterfunktionen erfolgt mit LiOH in einem alkoholi-

schen Lösungsmittel oder in Dioxan/Wasser. t-Butylester werden mit TFA oder Dioxan/HU gespalten.

Die Reaktionen wurden mittels DC kontrolliert, wobei üblicher-
5 weise folgende Laufmittel benutzt wurden:

- | | | |
|-------|----------------------|---------|
| A. | DCM/MeOH | 95:5 |
| B. | DCM/MeOH | 9:1 |
| C. | DCM/MeOH | 8:2 |
| 10 D. | DCM/MeOH/50 %ig HOAc | 40:10:5 |
| E. | DCM/MeOH/50 %ig HOAc | 35:15:5 |

Sofern säulenchromatographische Trennungen erwähnt werden, waren dies Trennungen über Kieselgel, für die die oben genannten Lauf-
15 mittel verwendet wurden.

Reversed phase HPLC Trennungen wurden mit Acetonitril/Wasser und HOAc Puffer durchgeführt.

20 Die Ausgangsverbindungen lassen sich nach folgenden Methoden herstellen:

Als Bausteine A werden für die Alkylierung z.B. α -Bromessigsäure-tert.-butylester, β -Brompropionsäure-tert.-butylester, α -Brompropionsäure-tert.-butylester, γ -Brombuttersäure-tert.-butylester, α -Brombuttersäure-tert.-butylester, THP-geschütztes Bromethanol, THP-geschütztes γ -Brompropanol, α -Brom- γ -butyrolacton, für die reduktive Aminierung z.B. Dihydroxyaceton, Acetondicarbonsäuredi-tert.-butylester und für die Michael-Addition z.B. Acrylsäure-
25 tert.-butylester, Methacrylsäure-tert.-butylester, Fumarsäure-di-tert.-butylester, eingesetzt. Die genannten tert.-Butylester werden, soweit sie nicht käuflich zu erwerben sind, analog
30 G. Uray, W. Lindner, Tetrahedron 1988, 44, 4357-4362 hergestellt.

35 B-Bausteine:

Für die allgemeine und spezielle Synthese von Aminosäuren stehen in der Literatur vielfältige Möglichkeiten zur Verfügung. Eine Übersicht hierzu bietet u.a. Band E16d/Teil 1 - Houben-Weyl,
40 S. 406 ff.

Häufig eingesetzte Edukte waren Benzophenoniminessigsäureethylester, Acetamidomalonsäurediethylester und Isonitrilelessigsäureethylester.

Die Darstellung verschiedener Glycin- und Alaninderivate erfolgte z.B. ausgehend von Isonitrileessigsäureethylester und einem entsprechenden Keton bzw. Aldehyd (siehe H.-J. Prätorius, J. Flossdorf, M.-R. Kula Chem. Ber. 1975, 108, 3079).

5

Die Synthesen von Cyclooctylglycin, 2-Norbonylglycin, Adamantylalanin, γ -Methylcyclohexylalanin, 4-Isopropylcyclohex-1-yl-alanin, 4-Methylcyclohex-1-yl-alanin und 4-Methylcyclohex-1-ylglycin wurden über die entsprechenden 2-Formylamino-acrylsäureethylester

10 (U. Schöllkopf und R. Meyer, Liebigs Ann. Chem. 1977, 1174)

ausgehend von Isocyanessigsäureethylester mit den jeweiligen Carbonylverbindungen Cyclooctanon, 2-Norbornanon, 1-Formyladamantan, 1-Formyl-1-methyl-cyclohexan, 1-Formyl-4-isopropyl-cyclohexan, 1-Formyl-4-methyl-cyclohexan und 4-Methylcyclohexanon

15 nach folgenden allgemeinen Vorschriften durchgeführt:

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese der 2-Formylaminoacrylsäureethylester

20 Zu 100 mMol Kalium-tert.-butylat in 150 ml THF tropfte man bei 0 bis -10°C die Lösung von 100 mMol Isocyanessigsäureethylester in 50 ml THF. Nach 15 min fügte man bei gleicher Temperatur 100 mMol der entsprechenden Carbonylverbindung in 50 ml THF zu, ließ die Reaktionsmischung langsam auf RT ansteigen und zog das Lösungs-

25 mittel am Rotationsverdampfer ab. Der Rückstand wurde mit 50 ml Wasser, 100 ml Essigsäure und 100 ml DCM vermischt und das Produkt mit DCM extrahiert. Die DCM-Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Die fast rein anfallenden Produkte konnten im Bedarfsfall

30 säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Gemische aus Ether/Petrolether) weiter gereinigt werden.

Allgemeine Vorschrift der Aminosäurehydrochloride ausgehend von den 2-Formylamino-acrylsäureethylestern

35

100 mMol der 2-Formylamino-acrylsäureethylester wurden mit Pd/C (10 %) -Wasserstoff in 200 ml Eisessig bis zur vollständigen Umsetzung hydriert. Dann wurde der Katalysator abfiltriert, die Essigsäure so weit wie möglich am Rotationsverdampfer abgezogen

40 und der Rückstand in 200 ml halbkonzentrierter Salzsäure 5 h zum Rückfluß erhitzt. Man zog die Salzsäure am Rotationsverdampfer ab, trocknete das Produkt bei 50°C im Vakuum und wusch mehrmals mit Ether nach. Die Hydrochloride fielen als schwach gefärbte Kristalle an.

45

Ausgehend von 18,9 g (150 mMol) Cyclooctanon erhielt man 25,0 g Cyclooctylglycin-hydrochlorid. Ausgehend von 16,5 g (150 mMol) 2-Norbornanon erhielt man 26,6 g 2-Norbonylglycin-hydrochlorid. Ausgehend von 19,7 g (120 mMol) 1-Formyladamantan erhielt man 26,0 g Adamantylalanin-hydrochlorid. Ausgehend von 12,6 g (100 mMol) 1-Formyl-1-methyl-cyclohexan erhielt man 16,6 g γ -Methylcyclohexylalanin-hydrochlorid. Ausgehend von 16,8 g (150 mMol) 4-Methylcyclohexanon erhielt man 25,9 g 4-Methylcyclohexylglycin-hydrochlorid. Ausgehend von 15 g trans-1-Formyl-4-methylcyclohexan erhielt man 18 g trans-4-Methylcyclohex-1-yl-alanin-hydrochlorid. Ausgehend von 9 g 3,3-Dimethyl-1-formyl-cyclohexan erhielt man 10 g 3,3-Dimethylcyclohex-1-yl-alanin-hydrochlorid.

15 Der für die Synthese benötigte Aldehyd, 1-Formyl-3,3-dimethyl-cyclohexan, wurde in Anlehnung an Moskal und Lensen (Rec. Trav. Chim. Pays-Bas 1987, 106, 137-141) dargestellt:

Eine Lösung von n-Butyllithium in n-Hexan (72 ml, 115 mmol) wurde innerhalb von 10 min bei -60°C zu einer gerührten Lösung von Diethylisocyanomethylphosphonat (17 ml, 105 mmol) in 280 ml wasserfreiem Diethylether getropft. Die entstandene Suspension wurde 15 min bei -60°C nachgerührt und innerhalb von 10 min mit einer Lösung von 3,3-Dimethylcyclohexanon (13 g, 105 mmol) in 100 ml wasserfreiem Diethylether versetzt, wobei die Temperatur unter -45°C gehalten wurde. Man ließ das Reaktionsgemisch auf 0°C kommen, rührte 90 min bei dieser Temperatur und gab vorsichtig 150-200 ml 38 %ige wäßrige Salzsäure hinzu. Zur vollständigen Hydrolyse wurde 15 h lang bei Raumtemperatur heftig gerührt. Man trennte die organische Phase ab, wusch sie mit je 200 ml Wasser, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung. Man trocknete über Magnesiumsulfat, filtrierte ab und engte am Rotationsverdampfer ein, um die Lösungsmittel zu entfernen. Der erhaltene Rückstand wurde ohne weitere Reinigung als Ausgangsmaterial für die Synthese der Aminosäure eingesetzt.

Boc-(D)- α -methyl-cyclohexylalanin

3,4 g (12,2 mMol) Boc-(D)- α -Methyl-Phe-OH wurden in 100 ml MeOH bei 50°C in Gegenwart von 250 mg 5-%igem Rh auf Al₂O₃ 24 h bei 10 bar mit Wasserstoff hydriert. Man erhielt nach Filtration und Abziehen des Lösungsmittels 2,8 g Boc-(D)- α -Methyl-Cha-OH. ¹H-NMR (DMSO-d₆, δ in ppm): 12 (sehr breites Signal, COOH); 1,7-0,8 (25 H; 1,35 (s, Boc), 1,30 (s, Me))

Boc-(3-Ph)-Pro-OH wurde analog einer Vorschrift von J.Y.L. Chung et al. (J.Y.L. Chung et al. J.Org.Chem. 1990, 55, 270) synthetisiert.

5 Darstellung von Boc-1-Tetralinylglycin

Boc-1-Tetralinylglycin wurde ausgehend von 1,2-Dihydronaphthalin dargestellt. 1,2 Dihydronaphthalin wurde zunächst mit HBr in 1-Tetralylbromid überführt (analog J. Med. Chem 1994, 37, 1586).
10 Anschließend wurde das Bromid mit Acetamidomalonsäurediethylester umgesetzt, hydrolytisch gespalten und die erhaltene α -Aminosäure unter Standardbedingungen in die Boc geschützte Form überführt. Eine weitere Darstellungsmöglichkeit wird von E. Reimann und D. Voss beschrieben (E. Reimann; D. Voss Arch. Pharm 1977, 310,
15 102).

Darstellung von Boc-1-(D,L)Tic-OH

Boc-1-(D,L)Tic-OH wurde nach einer Vorschrift von R. T. Shuman et
20 al. dargestellt (R.T. Shuman et al. J. Med. Chem. 1993, 36, 314).

Darstellung von Boc-(D,L)Dch-OH

Boc-(D,L)-Dpa-OH (1mmol) wurde in 12 ml MeOH zusammen mit kataly-
25 tischen Mengen von 5 % Rh/Al₂O₃ bei 5 bar hydriert. Nach Filtration und Entfernen des Solvens im Vakuum erhielt man das Produkt in quantitativer Ausbeute.

Darstellung von Cycloheptylglycin, Cyclopentylglycin, 4-Isopropylcyclohexylglycin und 3,3-Dimethylcyclohexylglycin 30

Die Darstellung dieser Aminosäuren erfolgte durch Umsetzung von Cycloheptanon, Cyclopentanon, 4-Isopropylcyclohexanon bzw. 3,3-Dimethylcyclohexanon mit Isonitrileessigsäureethylester entsprechend einer Vorschrift von H.-J. Prätorius (H.-J. Prätorius, J. Flossdorf, M.Kula, Chem. Ber. 1985, 108, 3079)
35

Darstellung von H-D,L-Chea-OH

40 4,0 g Cycloheptylmethylmethansulfonat (19,39 mMol), hergestellt aus Cycloheptylmethanol und Methansulfonsäurechlorid, wurden zusammen mit 4,9 g Benzophenoniminyglycinethylester (18,47 mMol), 8,9 g trockenem fein gepulvertem Kaliumcarbonat (64,65 mMol) und 1 g Tetrabutylammoniumbromid (3 mMol) in 50 ml trockenem Aceto-
45 nitril 10 h in Inertgasatmosphäre auf Rückfluß erhitzt. Danach wurde das Kaliumcarbonat abfiltriert, das Filtrat zur Trockene eingedampft, und das Rohprodukt direkt mit 20 ml 2N Salzsäure in

40 ml Ethanol 1,5 h unter Rühren bei RT hydrolisiert. Nach Verdünnen der Reaktionslösung wurde mit Essigester im sauren Bereich Benzophenon extrahiert, anschließend im alkalischen Bereich (pH = 9) H-D,L-Chea-OEt mit DCM extrahiert, die Lösung über 5 Magnesiumsulfat getrocknet und einrotiert. Ausbeute 3,7 g $\hat{=}$ 95 % der Theorie.

Die Darstellung von Boc-(D,L)-(3,4,5-(MeO)₃)Phe-OH erfolgte durch Alkylierung von Benzophenoniminyglycinethylester mit Trimethoxy- 10 benzylchlorid, anschließender Boc-Schutzgruppeneinführung und Esterverseifung.

Die Darstellung von D-(1,4-Cyclohexadien-1-yl)ala-OH erfolgte nach G. Zivilichovsky, V. Gurvich J. Chem. Soc., Perkin Trans 15 I 19 (1995) 2509-15.

Die Darstellung von H-(D,L)- $\beta\beta$ -Me₂Cha-OH erfolgte nach U. Schöllkopf, R. Meyer, L. Ann. Chem. 1977, 1174-82.

20 Die genannten Aminosäuren wurden nach allgemein bekannten Verfahren mit Di-tert.-butyl-dicarbonat in Wasser/Dioxan in die jeweils Boc-geschützte Form überführt und anschließend aus Essigester/Hexan-Gemischen umkristallisiert oder säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Essigester/Petrolether- 25 Gemische) gereinigt.

Die Boc-geschützten Aminosäuren wurden als B-Bausteine entsprechend Schema I eingesetzt.

30 Die genannten Aminosäuren wurden als B-Bausteine teilweise auch in die entsprechenden Benzylester überführt und mit den entsprechend geschützten A-Bausteinen verknüpft. Bei Verbindungen mit noch freier N-H-Funktion wurde diese anschließend mit einer Boc-Gruppe geschützt, die Benzylestergruppe abhydriert und der 35 Baustein A-B-OH durch Kristallisation, Salzfällung bzw. Säulenchromatographie gereinigt. Dieser Weg ist exemplarisch für tBuOOC-CH₂-(Boc)(D)Cha-OH nachfolgend beschrieben.

Synthese von D-Cyclohexylalaninbenzylester

40

Eine Suspension von 100 g (481 mmol) D-Cyclohexylalanin-hydrochlorid, 104 g (962 mmol) Benzylalkohol und 109,7 g (577 mmol) p-Toluolsulfonsäuremonohydrat in 2200 ml Toluol wurde am Wasserabscheider langsam zum Rückfluß erhitzt. In einem Temperatur- 45 bereich von 80-90°C beobachtete man Chlorwasserstoffentwicklung sowie das Auflösen der Suspension zu einer klaren Lösung. Als sich kein Wasser mehr abschied (ca. 4 h), destillierte man 500 ml

Toluol ab, ließ die Reaktionsmischung über Nacht abkühlen, filtrierte den entstandenen Rückstand ab und wusch zweimal mit je 1000 ml Hexan nach. Der erhaltene Rückstand (195 g) wurde sodann in 2000 ml Dichlormethan aufgeschlämmt, mit 1000 ml Wasser versetzt und unter Rühren durch sukzessive Zugabe von 50 %iger Natronlauge auf pH 9-9,5 eingestellt. Man trennte die organische Phase ab, wusch sie zweimal mit je 500 ml Wasser, trocknete sie über Natriumsulfat, filtrierte vom Trockenmittel ab und engte das Filtrat ein, wodurch man 115 g (94 %) des Titelproduktes als helles Öl erhielt.

N-(tert.-butyloxycarbonylmethylen)-D-cyclohexylalaninbenzylester

115 g (440 mmol) D-Cyclohexylalaninbenzylester wurden in 2000 ml Acetonitril gelöst, bei Raumtemperatur mit 607,5 g (4,40 mol) Kaliumcarbonat und 94,3 g (484 mmol) Bromessigsäure-tert.-butylester versetzt und 3 Tage bei dieser Temperatur gerührt. Man filtrierte vom Carbonat ab, wusch mit Acetonitril nach, engte die Mutterlauge ein (30°C, 20 mbar), nahm den Rückstand in 1000 ml Methyl-tert.-butylether auf und extrahierte die organische Phase mit 5 %iger Zitronensäure und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Man trocknete die organische Phase über Natriumsulfat, filtrierte vom Trockenmittel ab, engte ein und setzte das erhaltene Öl (168 g) direkt in die folgende Reaktion ein.

25

N-Boc-N-(tert.-butyloxycarbonylmethylen)-D-cyclohexylalaninbenzylester

Das in voriger Synthese erhaltene Öl (168 g, 447 mmol) wurde in 1400 ml Acetonitril gelöst, mit 618 g (4,47 mol) Kaliumcarbonat-Pulver und 107,3 g (492 mmol) Di-tert.-butyldicarbonat versetzt und 6 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Man saugte das Kaliumcarbonat ab, wusch mit ca. 1000 ml Acetonitril nach und engte das Filtrat ein. Man erhielt 230 g des gewünschten Produkts.

35

N-Boc-N-(tert.-butyloxycarbonylmethylen)-D-cyclohexylalanincyclohexylammoniumsalz

115 g N-Boc-N-(tert.-butyloxycarbonylmethylen)-D-cyclohexylalaninbenzylester wurden in 1000 ml reinem Ethanol gelöst und bei 25-30°C in Gegenwart von 9 g 10 %igem Pd auf Aktivkohle 2 h bei Normaldruck mit Wasserstoff hydriert. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhielt man 100 g (260 mmol) eines gelben Öls, das man in 1600 ml Aceton aufnahm und zum Rückfluß erhitzte. Man entfernte das Heizbad und gab über einen Tropftrichter zügig eine Lösung von 27 g (273 mmol) Cyclohexylamin in Aceton hinzu. Beim Abkühlen der

Reaktionsmischung auf Raumtemperatur kristallisierte das gewünschte Salz aus. Man filtrierte den Feststoff ab, wusch mit 200 ml Aceton nach und kristallisierte zur endgültigen Reinigung noch einmal aus Aceton um. Nach Trocknung des Rückstandes im 5 Vakuumtrockenschrank bei 30°C erhielt man 70,2 g des gewünschten Salzes als weißes Pulver.

N-Boc-N-(tert.-butyloxycarbonylmethylen)-D-cyclohexylglycincyclohexylammoniumsalz wurde in analoger Weise aus Cyclohexyl-
10 glycine als Edukt hergestellt.

N-Boc-N-(tert.-butyloxycarbonylethylen)-D-cyclohexylalanincyclohexylammoniumsalz

15 a) 3-Brom-propionsäure-tert-butylester

16,64g (109 mmol) Brompropionsäure, 150 ml kondensiertes 2-Methylpropen und 2ml konzentrierte Schwefelsäure wurden bei -30°C im Stickstoffgegenstrom in ein für einen Autoklaven
20 geeignetes Glasgefäß gegeben, fest verschlossen und 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Reaktionsgefäß erneut auf -30°C abgekühlt und die Reaktionslösung vorsichtig in 200ml einer eiskalten, gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung gegossen. Unter Rühren ließ man über-
25 schüssiges 2-Methylpropen abdampfen, extrahierte den Rückstand dreimal mit je 50 ml Dichlormethan, trocknete die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat, filtrierte vom Trockenmittel ab und engte im Wasserstrahlvakuum ein. Der ölige Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt
30 (Laufmittel n-Hexan, später n-Hexan/Diethylether 9:1). Man erhielt 18,86g der Titelverbindung.

b) N-(tert.-butyloxycarbonylethylen)-D-cyclohexylalaninbenzylester

35 49,4 g (189 mmol) D-Cyclohexylalaninbenzylester wurden in 250 ml Acetonitril gelöst, bei Raumtemperatur mit 31,6 g (151 mmol) Brompropionsäure-tert.-butylester versetzt und 5 Tage unter Rückfluß gekocht. Man filtrierte vom entstandenen Niederschlag ab, wusch mehrmals mit Acetonitril
40 nach, engte das Filtrat im Wasserstrahlvakuum ein, nahm den Rückstand in 350ml Dichlormethan auf und extrahierte die organische Phase mit 5 %iger Zitronensäure und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Man trocknete die organische
45 Phase über Natriumsulfat, filtrierte vom Trockenmittel ab und engte ein. Der ölige Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel Dichlormethan, später Dichlormethan/

Methanol 95:5). Man erhielt ein leicht verunreinigtes Öl, das direkt in die folgende Reaktion eingesetzt wurde.

- 5 c) N-Boc-N-(tert.-butyloxycarbonylethylen)-D-cyclohexylalaninbenzylester

10 Das in voriger Synthese erhaltene Öl (30g, max. 70mmol) wurde in 150 ml Acetonitril gelöst, mit 28ml (160 mmol) Di-iso-propylethylamin und 19,2 g (88 mmol) Di-tert.-butyldicarbonat versetzt und 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Man engte das Reaktionsgemisch am Rotationsverdampfer im Wasserstrahlvakuum ein, nahm den Rückstand in n-Hexan auf und wusch fünfmal mit je 3ml einer 5%igen Zitronensäurelösung, trocknete die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat, filtrierte 15 das Trockenmittel ab, engte ein und unterwarf den Rückstand einer säulenchromatographischen Trennung (Laufmittel Hexan/Essigsäureethylester 95:5). Man erhielt 32,66 g (64 mmol) des gewünschten Produkts.

- 20 d) N-Boc-N-(tert.-butyloxycarbonylethylen)-D-cyclohexylalanin-cyclohexylammoniumsalz

25 32,66 g (64 mmol) N-Boc-N-(tert.-butyloxycarbonylethylen)-D-cyclohexylalaninbenzylester wurden in 325 ml reinem Ethanol gelöst und bei 25-30°C in Gegenwart von 3 g 10 %igem Pd auf Aktivkohle 14 h bei Normaldruck mit Wasserstoff hydriert. Nach Filtration der Lösung über Celite®, Nachwaschen mit Ethanol und Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhielt man 26,7 g eines gelben Öls, das man in 30 Aceton aufnahm und zum Rückfluß erhitzte. Man entfernte das Heizbad und gab über einen Tropftrichter zügig eine Lösung von 7 g (70 mmol) Cyclohexylamin in Aceton hinzu. Beim Abkühlen der Reaktionsmischung auf Raumtemperatur kristallisierte das gewünschte Salz aus. Man filtrierte den Feststoff 35 ab, wusch mit 25 ml Aceton nach und kristallisierte zur endgültigen Reinigung noch einmal aus Aceton um. Nach Trocknung des Rückstandes im Vakuumtrockenschrank bei 30°C erhielt man 26,6 g (54 mmol) des gewünschten Salzes als weißes Pulver.

- 40 N-Boc-N-(tert. butyloxycarbonylmethylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolin:

45 a) N-Boc-Pyr-OH (5 g, 23,45 mmol) wurde in MeOH (50 ml) gelöst und mit HCl in Dioxan (4N, 30 ml) versetzt. Anschließend wurde 12 h unter Rückfluß erwärmt. Das Lösungsmittel wurde abrotiert und H-Pyr-OMe Hydrochlorid als Produkt erhalten. Ausbeute: 3,84 g (100%).

b) N-(t-BuO₂C-CH₂)-N-Boc-(D)-Cha-OH (8 g, 20,75 mmol) wurde in Dichlormethan (75 ml) gelöst und bei -10°C mit Ethyldiisopropylamin (15,5 ml, 89,24 mmol) versetzt. Nach 5 min Rühren bei dieser Temperatur wurde eine Lösung von H-Pyr-OMe Hydrochlorid (3,4 g, 20,75 mmol) in Dichlormethan (25 ml) zuge-
5 tropft. Anschließend wurde eine Lösung von Propanphosphonsäureanhydrid in Essigsäureethylester (50%ig, 20 ml, 26,96 mmol) zugetropft und 2 h bei -10 bis 0°C gerührt. Der Ansatz wurde mit Dichlormethan verdünnt und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (2 x 80 ml), 5%iger Zitronensäure-
10 lösung (2 x 15 ml) und gesättigter Natriumchloridlösung (1 x 20 ml) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abrotiert. Das Rohprodukt wurde mittels Flashchromatographie gereinigt (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol = 95/5). Ausbeute: 6,2 g (60 %).

c) N-(t-BuO₂C-CH₂)-N-Boc-(D)-Cha-Pyr-OMe (5,5 g, 11,12 mmol) wurde in Dioxan (40 ml) gelöst, mit Natronlauge (1N, 22,2 ml, 22,24 mmol) versetzt und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Das
20 Dioxan wurde abrotiert, die wässrige Phase mit Essigsäureethylester gewaschen und mit Kaliumhydrogensulfatlösung (20%ig) auf pH 1-2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen
25 Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Ausbeute: 5 g (94%), farbloser Schaum. Umkristallisation aus mit Wasser gesättigtem n-Hexan ergab farblose Kristalle (m.p. = 158-160°C).

N-Boc-N-(tert.-butyloxycarbonylmethylen)-(D)-cyclohexylglycyl-
3,4-dehydroprolin
30

Diese Verbindung wurde in analoger Weise aus N-Boc-N-(tert.-butyloxycarbonylmethylen)-(D)-cyclohexylglycin und 3,4-Dehydroprolinmethylester dargestellt.

35 Das als E-Baustein eingesetzte (L)3,4-Dehydroprolin ist käuflich zu erwerben, die (D,L)-4,5-Dehydropipecolinsäure läßt sich nach A. Burgstahler, C.E. Aiman J. Org. Chem. 25 (1960), 489 oder C. Herdeis, W. Engel Arch. Pharm 326 (1993), 297 herstellen und anschließend mit (Boc)₂O in Boc-(D,L)-Dep-OH überführen.

40

Die Synthese der D-Bausteine wurde wie folgt durchgeführt:

5-Aminomethyl-2-cyanothiophen

45 Die Darstellung dieses Bausteins wurde wie in WO 95/23609 beschrieben, durchgeführt

4-Aminomethyl-2-cyanothiophen

a) 2-Brom-4-formylthiophen

5 36 g (320 mmol) 3-Formylthiophen wurden in 600 ml Methylen-
chlorid gelöst, auf 5°C abgekühlt, portionsweise mit 100 g
(750 mmol) Aluminiumtrichlorid versetzt und das Reaktions-
gemisch anschließend unter Rückfluß erhitzt. Innerhalb von
45 min tropfte man eine Lösung von 59 g (19 ml, 360 mmol)
10 Brom in 40 ml Methylenchlorid zu und ließ 4 h bei Rückfluß
nachreagieren. Nach Abkühlen wurde die Reaktionslösung auf
600 g Eiswasser gegossen, mit Methylenchlorid extrahiert,
die organische Phase mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-
lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und im
15 Vakuum einrotiert. Man erhielt 64,5 g Rohprodukt, welches
mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, Methylenchlorid/
Petrolether) gereinigt wurde. Dabei wurden insgesamt 56,5 g
leicht verunreinigtes Produkt erhalten.

20 b) 2-Cyano-4-formylthiophen

Zu einer Lösung von 13,53 g (70,82 mmol) 2-Brom-4-formyl-
thiophen in 25 ml DMF wurden 7,6 g (85 mmol) Kupfer(I)cyanid
zugegeben und die Reaktionsmischung 3,5 h unter Rückfluß
25 erhitzt, wobei sich die ursprünglich hellgrüne Suspension
in eine schwarze Lösung verwandelte. Nach Zugabe von Wasser
wurde die Reaktionsmischung mit Essigester mehrfach extra-
hiert, die organischen Phasen vereinigt, mit gesättigter
Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und
30 unter leichtem Vakuum einrotiert. Durch Versetzen des Rück-
standes (7 g) mit Ether konnten 1,6 g reines Produkt erhalten
werden. Die Mutterlauge wurde zusammen mit den Rohprodukten
aus anderen Ansätzen chromatographisch gereinigt. (Kieselgel,
Methylenchlorid/Petrolether 1:1). Insgesamt wurden 56,5 g
35 2-Brom-4-formylthiophen zu 2-Cyano-4-formylthiophen umgesetzt
und dabei 12,6 g reines Produkt erhalten (31 % Ausbeute).

c) 2-Cyano-3-hydroxymethylthiophen

40 Zu einer Suspension von 12,6 g (91,8 mmol) 2-Cyano-4-formyl-
thiophen in 200 ml Ethanol wurden 3,47 g (91,8 mmol) Natrium-
borhydrid portionsweise zugegeben und bei Raumtemperatur
2 h gerührt, wobei die Reaktionsmischung langsam eine klare
Lösung bildete. Nach Einengen im Vakuum wurde der Rückstand
45 in Essigester aufgenommen, nacheinander mit gesättigter Koch-
salzlösung, 5 %iger Zitronensäure und gesättigter Kochsalz-
lösung gewaschen, die organische Phase mit Natriumsulfat

getrocknet und im Vakuum eingeengt. Man erhielt 11,7 g fast reines Produkt (Ausbeute 91,5 %).

d) 3-Brommethyl-2-cyanothiophen

5

11,7 g (84,07 mmol) 2-Cyano-3-hydroxymethylthiophen wurden zusammen mit 24,1 g (91,87 mmol) Triphenylphosphin in 100 ml THF bei Raumtemperatur gelöst und unter Kühlung (Eisbad) portionsweise mit 30,47 g (91,87 mmol) Tetrabrommethan versetzt. Nach 3-stündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde im Vakuum eingeengt und über Kieselgel (Methylenchlorid/Petrolether) chromatographisch gereinigt. Man erhielt 18,8 g noch Petrolether enthaltendes kristallines hellgelbes Produkt.

10

15 e) 4-N,N-Bis(tert-butoxycarbonyl)-aminomethyl-2-cyanothiophen

20

18,81 g 3-Brommethyl-2-cyanothiophen (Rohprodukt, maximal 84,07 mmol) wurden in 160 ml THF gelöst, auf 5°C abgekühlt und portionsweise mit 3,07 g (102,4 mmol) 80%iger Natriumhydridsuspension versetzt. Anschließend wurden 22,25 g (102,4 mmol) Di-tert.-butyl-iminodicarboxylat gelöst in 160 ml THF bei 5°C zugetropft und danach über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Da laut DC der Umsatz unvollständig war, wurde 4,5 h auf 30-35°C erwärmt. Nach Abkühlen auf 0-5°C wurden langsam 33 ml gesättigte Ammoniumchloridlösung zuge-

25

30

tropft, THF im Vakuum abdestilliert, der Rückstand mehrfach mit Essigester extrahiert, die Essigesterphasen mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum einrotiert. Der rote zähflüssige Rückstand (34,61 g) wurde als Rohprodukt in der nachfolgenden Umsetzung eingesetzt.

f) 4-Aminomethyl-2-cyanothiophen-Hydrochlorid

35

34,61 g 4-N,N-Bis(tert.-butoxycarbonyl)-aminomethyl-2-cyanothiophen (Rohprodukt, maximal 84,07 mmol) wurden in 600 ml Essigester gelöst, auf 0-5°C abgekühlt, mit HCl-Gas gesättigt und auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 3 h rotierte man die entstandene Suspension ein, kodestillierte mehrfach mit Methylenchlorid, rührte den Rückstand mit Ether aus und trocknete den Rückstand im Vakuum. Es wurden 13,85 g Produkt als helles Pulver erhalten. Ausbeute über zwei Stufen 94,3 %.

40

45

2-Aminomethyl-4-cyanothiophen

a) 4-Cyano-thiophen-2-carbaldehyd

5 49,3 g (258,05 mmol) 4-Brom-thiophen-2-carbaldehyd und 27,8 g
(310,41 mmol) Kupfer-(I)-cyanid wurden in 130 ml absolutem
DMF suspendiert und 8 h unter Rückfluß erhitzt. Das Lösungs-
mittel wurde im Vakuum bei 40°C abrotiert, der Rückstand in
10 Essigester suspendiert und in eine Soxleth-Apparatur über-
führt. Der Rückstand wurde über Nacht extrahiert, die gelbe
Lösung über Natriumsulfat getrocknet, im Vakuum einrotiert
und der erhaltene gelbe Feststoff aus Ether umkristallisiert.
Es wurden 25,3 g Produkt erhalten (80 % der Theorie)

15 b) 4-Cyano-thiophen-2-carbaldehyd-oxim

11,6 g (84,6 mmol) 4-Cyano-thiophen-2-carbaldehyd wurden in
140 ml Methanol gelöst und mit 12,3 g (116,1 mmol) Natrium-
carbonat versetzt. Anschließend wurden 6,5 (93,5 mmol)
20 Hydroxylamin-Hydrochlorid portionsweise unter Kühlung bei
15°C zugegeben und noch 2 h bei 10°C gerührt. Nach Zugabe
von 80 ml Wasser extrahierte man die Reaktionsmischung fünf-
mal mit je 50 ml Diethylether, trocknete die organische Phase
über Natriumsulfat und entfernte das Lösungsmittel im Vakuum.
25 Es wurden 12,5 g gewünschtes Produkt als gelbes Kristall-
pulver erhalten (96 % der Theorie)

c) 2-Aminomethyl-4-cyanothiophen-Hydrochlorid

30 11,22 g (171,64 mmol) feiner Zinkstaub wurden in mehreren
kleinen Portionen vorsichtig zu einer auf 0-5°C gekühlten
Lösung von 4,65 g (30,60 mmol) 4-Cyano-thiophen-2-carb-
aldehyd-oxim in 50 ml Trifluoressigsäure so zugegeben, daß
die Temperatur 15°C nicht überstieg. Nach 3 h Rühren bei
35 Raumtemperatur wurde vom überschüssigen Zink abdekandiert,
Trifluoressigsäure im Vakuum (Ölpumpe) weitgehend entfernt,
das verbliebene Öl auf 0°C abgekühlt und portionsweise mit
einer auf 0°C vorgekühlten Mischung aus 150 ml 3N Natronlauge
und 2 l Methylenchlorid versetzt. Nach Filtration von Un-
40 löslichem wurde die organische Phase abgetrennt, die wäßrige
Phase achtmal mit 20 ml Methylenchlorid extrahiert, die ge-
sammelten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet
und anschließend unter Eiskühlung mit 20 ml 6M methanolischer
Salzsäure versetzt. Dabei fiel das Produkt in Form des
45 Hydrochlorids als weißer Feststoff aus, wobei zur Vervoll-
ständigung der Kristallisation die Suspension über Nacht auf

4°C abgekühlt wurde. Es wurden 2,2 g Produkt als farblose Nadeln erhalten (50 % der Theorie)

5-Aminomethyl-3,4-dimethyl-thiophen-2-carbonsäureamid-Hydro-
5 chlorid

19 g (105,42 mmol) 5-Cyano-3,4-dimethyl-thiophen-2-carbonsäure-
amid wurden in 760 ml Methanol und 110 ml 2N Salzsäurelösung
suspendiert, mit 9,5 g Pd auf Kohle (10%) versetzt und bei Raum-
10 temperatur hydriert. Nach Aufnahme von 4,7 l Wasserstoff (4 h)
wurde Methanol im Vakuum abdestilliert, die Wasserphase dreimal
mit Essigester extrahiert und die wäßrige Phase anschließend
gefriergetrocknet. Man erhielt 16,3 g gewünschtes Produkt als
weiße Festsubstanz (70,4 % der Theorie).

15

5-Aminomethyl-isoxazol-3-carbonsäureamid

a) 5-Chlormethyl-isoxazol-3-carbonsäureethylester

20 Zu einer auf 10-15°C abgekühlten Mischung aus 30 g (198 mmol)
2-Chlor-2-hydroxyimino-essigsäureethylester und 150 ml
Propargylchlorid wurden 21,2 g (210 mmol) Triethylamin
unter Rühren zugetropft, 1 h bei Raumtemperatur nachgerührt,
anschließend mit Wasser versetzt, mit Ether extrahiert,
25 die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und
im Vakuum einrotiert. Der Rückstand wurde im Vakuum bei
0,5 Torr destilliert, wobei das Produkt bei 116-122°C über-
destillierte.

30 b) 5-Chlormethyl-isoxazol-3-carbonsäure

47,3 g (250 mmol) 5-Chlormethyl-isoxazol-3-carbonsäureethyl-
ester wurden in 150 ml Ethanol mit 14 g (250 mmol) Kalium-
hydroxid versetzt und die Reaktionsmischung 6 h bei 60-70°C
35 gerührt. Nach dem Abkühlen wurde im Vakuum eingeeengt, der
Rückstand in Wasser aufgenommen, mit Ether extrahiert, die
wäßrige Phase mit Salzsäure angesäuert, anschließend mehrfach
mit Ether extrahiert, die Etherphase über Natriumsulfat ge-
trocknet und im Vakuum eingeeengt (Ölpumpe, 50°C). Es wurden
40 31 g des gewünschten Produktes erhalten (77 % der Theorie)

c) 5-Chlormethyl-isoxazol-3-carbonsäurechlorid

120 g (743 mmol) 5-Chlormethyl-isoxazol-3-carbonsäure wurden
zusammen mit 500 ml Thionylchlorid und 2 Tropfen Pyridin 10 h
45 unter Rückfluß erhitzt, anschließend im Vakuum eingeeengt und

dann bei 20 Torr destilliert. Das Produkt destillierte bei 125-133°C. Es wurden 78 g erhalten (58 % der Theorie)

d) 5-Chlormethyl-isoxazol-3-carbonsäureamid

5

In eine Lösung von 10 g (55,56 mmol) 5-Chlormethyl-isoxazol-3-carbonsäurechlorid in 100 ml Methylenchlorid wurde bei 10-15°C 1 h Ammoniak eingeleitet und anschließend 1 h bei Raumtemperatur weitergerührt. Nach Abkühlen der Lösung auf 0°C wurde der Niederschlag abgesaugt, mit wenig kaltem Methylenchlorid gewaschen und der Rückstand 2mal mit Wasser zur Entfernung der Ammoniumsalze ausgerührt. Nach dem Trocknen im Vakuum wurden 6,58 g reines Produkt als helles Pulver erhalten (74 % der Theorie)

15

e) 5-Aminomethyl-isoxazol-3-carbonsäureamid-Hydrochlorid

20

Zu einer Mischung aus 100 ml konzentrierter Ammoniaklösung und 72 ml Methanol wurden 2,44 g (15,2 mmol) 5-Chlormethyl-isoxazol-3-carbonsäureamid gegeben, die Reaktionslösung auf 40°C erwärmt und dabei ständig mit Ammoniakgas gesättigt. Nach 6 h war das Edukt umgesetzt. Das Methanol wurde im Vakuum entfernt, die wäßrige Phase zweifach mit Methylen-

25

chlorid extrahiert und anschließend die wäßrige Phase schonend im Vakuum zur Trockene einrotiert. Der weiße feste Rückstand wurde als Rohprodukt in die Kupplung mit Boc-Dehydroprolin eingesetzt.

2-Aminomethyl-thiazol-4-thiocarboxamid wurde entsprechend G. Videnov, D. Kaier, C. Kempter und G. Jung Angew. Chemie (1996) 108, 1604 dargestellt, wobei die dort beschriebene N-Boc-geschützte Verbindung mit etherischer Salzsäure in Methylenchlorid entschützt wurde.

35 4-Aminomethyl-thiazol-2-thiocarboxamid

Die Vorstufe 4-Aminomethyl-thiazol-2-carbonsäureethylester wurde entsprechend dem Patent US 4 826 816 hergestellt. Nach Einführung der Boc-Schutzgruppe an der Aminfunktion wurde die Estergruppe verseift, die entstandene Säurefunktion über das gemischte Anhydrid (Kohlensäureisobutylester) in das Carbonsäureamid und anschließend mit Lawesson Reagenz in das Thioamid überführt. Nach Schutzgruppenabspaltung wurde die oben angegebene Zwischen-

45

5-Aminomethyl-2-cyanofuran

a) 5-Cyanofuran-2-carbaldehyd:

5 Zu einer auf -78°C gekühlten Lösung von 26,7 g (264 mmol) Diisopropylamin in 600 ml Tetrahydrofuran gab man innerhalb von 20 min 165 ml (264 mmol) einer 1,6 molaren Lösung von n-Butyllithium in n-Hexan. Die Lösung ließ man auf -20°C kommen, kühlte erneut auf -75°C und tropfte bei dieser

10 Temperatur langsam eine Lösung von 22,3 g (240 mmol) 2-Cyanofuran in 100 ml Tetrahydrofuran hinzu. Man ließ 30 min nachrühren, tropfte langsam 93 ml Dimethylformamid hinzu und ließ erneut 30 min rühren. Zur Aufarbeitung versetzte man bei -70°C mit einer Lösung von 40 g Zitronensäure in 200 ml

15 Wasser. Man engte am Rotationsverdampfer ein, versetzte mit 600 ml gesättigter Natriumchloridlösung und extrahierte dreimal mit je 200 ml Diethylether. Die vereinigten organischen Extrakte wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Abfiltrieren des Trockenmittels wurde das Lösungsmittel im

20 Wasserstrahlvakuum abdestilliert und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel Dichlormethan). Das Eluat wurde eingeeengt und der Rückstand einer Wasserdampfdestillation unterzogen (Siedebereich des Azeotrops mit Wasser: $60-65^{\circ}\text{C}$ bei $p=0,1$ mm Hg). Nach der Extraktion des

25 Destillates mit Diethylether, Trocknen der organischen Phase und Einengen der Lösung erhielt man 10,6 g (88 mmol, 36 %) der Titelverbindung. $^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 7.7$ (d, 1H), 7.8 (d, 1H), 9.75 (s, 1H).

30 b) 5-Hydroxymethyl-2-cyanofuran:

Zu einer Lösung von 30g (0,25 mol) 5-Cyanofuran-2-carbaldehyd in 500 ml absolutem Ethanol wurden bei -30°C portionsweise 2,34 g (62 mmol) Natriumborhydrid gegeben. Man rührte zwei

35 Stunden bei -30°C und brachte die gekühlte Reaktionslösung mit Hilfe einer 5 %igen Zitronensäurelösung in Wasser auf pH 7. Man engte das Reaktionsgemisch im Wasserstrahlvakuum ein, versetzte den Rückstand mit gesättigter Natriumchloridlösung, extrahierte mehrfach mit je 150 ml Diethylether,

40 trocknete die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat, filtrierte das Trockenmittel ab und destillierte das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum bei Raumtemperatur ab. Man erhielt auf diese Weise 27 g (22 mmol, 88 %) der Titelverbindung als dunkelrotes Öl, das ohne weitere Reinigung in

45 die folgenden Umsetzungen eingesetzt wurde. $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 4.4$ (m, 2H), 5.6 (bs, 1H), 6.6 (d, 1H), 7.5 (d, 1H).

c) 5-Bromomethyl-2-cyanofuran:

5 Zu einer Lösung von 15g (121 mmol) 5-Hydroxymethyl-2-cyano-
furan in 250 ml Tetrahydrofuran wurden 38 g (145 mmol) Tri-
phenylphosphin gegeben. Man kühlte auf -10°C und gab eine
Lösung von 48g (145 mmol) Tetrabrommethan in 100 ml Tetra-
hydrofuran hinzu. Man ließ auf Raumtemperatur erwärmen und
rührte drei Stunden lang bei dieser Temperatur. Die Reak-
tionsmischung wurde am Rotationsverdampfer im Wasserstrahl-
10 vakuum eingeeengt und der Rückstand säulenchromatographisch
gereinigt (Laufmittel Petrolether: Dichlormethan 1:1,
 $R_f = 0.5$). Man erhielt 11,5g der Titelverbindung. $^1\text{H-NMR}$
(250 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 4.8$ (m, 2H), 6.7 (d, 1H), 7.7 (d, 1H).

15 d) 5-N,N-Bis(tert.-butoxycarbonyl)aminomethyl-2-cyanofuran:

Eine auf 0°C gekühlte Lösung von 22,9 g (123 mmol) 5-Brom-
methyl-2-cyanofuran in 400 ml Tetrahydrofuran wurde portions-
weise mit 4,0 g (135 mmol) Natriumhydrid (80 %ige Suspension
20 in Mineralöl) versetzt. Anschließend wurde eine Lösung von
29,4 g (135 mmol) Di-tert.-butyl-iminodicarboxylat in 200 ml
Tetrahydrofuran hinzuge tropft, wobei die Temperatur 5°C nicht
überstieg. Man ließ auf Raumtemperatur erwärmen und über
Nacht rühren. Da der Umsatz unvollständig war (DC-Kontrolle),
25 wurden über einen Zeitraum von 9 Stunden noch insgesamt 1,2 g
Natriumhydrid in drei Portionen nachgegeben. Man erwärmte zur
Vervollständigung des Umsatzes noch drei Stunden lang auf
 35°C , ließ danach auf Raumtemperatur abkühlen und versetzte
langsam mit 600 ml einer gesättigten Ammoniumchloridlösung.
30 Das Lösungsmittel wurde im Wasserstrahlvakuum abdestilliert,
der Rückstand mehrere Male mit Essigsäureethylester extra-
hiert, die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter
Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrock-
net und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Man erhielt 37,3 g
35 eines öligen Rückstandes, der noch Di-tert.-butyl-iminodi-
carboxylat enthielt und als Rohprodukt in die folgende Um-
setzung eingesetzt wurde. $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 1.40$,
1.45 (s, 18H), 4.75 (s, 2H), 6.55 (d, 1H), 7.55 (d, 1H).

40 e) 5-Aminomethyl-2-cyanofuranhydrochlorid:

37,3 g 5-N,N-Bis(tert.-butoxycarbonyl)aminomethyl-2-cyano-
furan (Rohprodukt aus d), maximal 123 mmol) wurden in 600 ml
Essigsäureethylester gelöst und auf 0°C gekühlt. Man sättigte
45 mit Chlorwasserstoffgas, wobei nach 30 min ein weißer Nieder-
schlag ausfiel. Man ließ auf Raumtemperatur kommen, ließ über
Nacht rühren, engte die entstandene Suspension anschließend

am Rotationsverdampfer ein, rührte den Rückstand mit Diethylether aus, filtrierte vom Lösungsmittel ab und trocknete den festen Rückstand bei Raumtemperatur im Vakuum. Man erhielt 15,1g (77% Ausbeute über zwei Stufen) der Titelverbindung als leicht ockerfarbenes Pulver. ¹H-NMR (250 MHz, d₆-DMSO): δ = 4.15 (bs, 2H), 6.85 (d, 1H), 7.65 (d, 1H), 8.8-9.0 (bs, 3H).

5-Aminomethyl-3-cyanofuran

10 a) 4-Oxopentansäureethylester

100 g (0,86 Mol) 4-Oxopentansäure, 150 g Ethanol und 1 ml Schwefelsäure wurden in 200 ml Benzol unter Rückfluß erhitzt, bis die Wassertrennung in der Dean-Stark-Falle beendet war. Das gekühlte Reaktionsgemisch wurde mit Wasser, Natriumcarbonatlösung und erneut mit Wasser gewaschen und dann unter Rückfluß mit der Dean-Stark-Falle getrocknet. Als die Abtrennung der Wasserphase beendet war, wurde das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand unter verringertem Druck destilliert. Sdp. 85-87°C/16 mmHg, Ausbeute 105,5 g (85 %).

b) 4,4-Diethoxypentansäureethylester

Ein Gemisch aus 171,3 g (1,19 Mol) 4-Oxopentansäureethylester, 207 ml (184,2 g, 1,24 Mol) Triethylorthoformiat, 26 ml absochmlutem Ethanol und 1 g p-Toluolsulfonsäure wurde unter gründlichem Rühren 8 h unter Rückfluß erhitzt und dann im Vakuum destilliert. Es wurden 187,9 g (72,5 %) 4,4-Diethoxypentansäureethylester erhalten, Sdp. 104-106°C/14 mm Hg.

c) 2-Formyllävulinsäureethylester

Ein Gemisch aus 106,3 g (0,489 Mol) 4,4-Diethoxypentansäureethylester und 80 ml (73,6 g, 0,99 Mol) Ethylformiat wurde unter gründlichem Rühren tropfenweise zu einer Suspension aus 12,7 g (0,55 grammatom) (dünnblättrigem) Natrium in 300 ml wasserfreiem Benzol 3 h bei 10-15°C gegeben. Das Rühren wurde weitere 3 h fortgesetzt, und das Reaktionsgemisch über Nacht stehengelassen. Es wurden 250 ml Wasser unter gründlichem Rühren zugegeben, das noch weitere 15 min fortgeführt wurde. Die Wasserschicht wurde abgetrennt, und die Benzolschicht wurde mit 70 ml Wasser extrahiert. Die vereinigten Wasserextrakte wurden auf einen pH-Wert von 2 angesäuert, mit Ethylacetat (5x50 ml) extrahiert, und die organischen Extrakte wurden über Calciumchlorid getrocknet.

Die Ethylacetatlösung wurde im Vakuum destilliert, und die Fraktion mit einem Sdp. von 102-110°C/1 mm Hg gesammelt. Diese Fraktion ist ein Gemisch aus 2-Formyllävulinsäureethylester und seinem Diethylketal. Ihr Mischungsverhältnis hängt von der Intensität des Rührvorgangs und der Dauer der Phasentrennung bei der Isolation der Formylierungsprodukte ab.

Die Benzolschicht wurde ebenfalls über Calciumchlorid getrocknet, das Lösungsmittel wurde entfernt, und der Rückstand wurde unter verringertem Druck destilliert, wonach das entstandene Lävulinsäureethylester-Ketal-Gemisch wie in b) beschrieben anstelle des reinen Lävulinsäureethylesters behandelt wurde. Die Schritte (2) und (3a) wurden so lange wiederholt, bis die nötige Menge 2-Formyllävulinsäureethylester erhalten wurde.

d) 5-Methylfuran-3-carbonsäureethylester

Das vorstehend genannte Gemisch aus 2-Formyllävulinsäureethylester und seinem Diethylketal wurde in Benzol gelöst, der Katalysator wurde zugesetzt, und die erhaltene Lösung wurde mit einer Dean-Stark-Falle 3-3,5 h unter Rückfluß belassen, bis das Wasser vollständig entfernt war. Danach wurde das Reaktionsgemisch unter verringertem Druck destilliert, wobei 15 g (97 mMol) 5-Methylfuran-3-carbonsäureethylester, Sdp. 97°C/15 mm Hg, erhalten wurden.

e) 5-Methylfuran-3-carbonsäure

Ein Gemisch aus 31,7 g (206 mMol) 5-Methylfuran-3-carbonsäureethylester, 40 ml 45 %iges Kaliumhydroxid und 100 ml Wasser wurde 4 h unter Rückfluß und unter Rühren erhitzt, dann auf 10°C gekühlt und mit 15 %iger Salzsäure auf einen pH-Wert von 1 angesäuert. Das entstandene Reaktionsgemisch wurde 2 h bei dieser Temperatur belassen, das Präzipitat wurde abfiltriert und bei 45-50°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, wobei 23,7 g (188 mMol, 91%) 5-Methylfuran-3-carbonsäure erhalten wurden.

f) 5-Methylfuran-3-carbonsäurechlorid

Zu einer Suspension aus 23,7 g (188 mMol) 5-Methylfuran-3-carbonsäure in 100 ml Benzol wurden 39,2 g (188 mMol) Phosphor(V)-chlorid in kleinen Mengen unter Rühren gegeben. Man beobachtete eine beträchtliche Wärmefreisetzung und Chlorwasserstoffentwicklung. Das entstandene Gemisch wurde 4 h unter Rückfluß und Rühren belassen und dann im Vakuum

destilliert. Es wurden 24,7 g (171 mMol, 91 %) Säurechlorid erhalten, Sdp. 79°C/12 mm Hg.

g) 5-Methylfuran-3-carbonsäureamid

5

Es wurden 24,7 g (171 mMol) 5-Methylfuran-3-carbonsäurechlorid tropfenweise unter Rühren zu einem Gemisch aus 80 ml einer 25%igen Ammoniumhydroxidlösung und 80 ml Benzol bei 25-40°C gegeben. Das entstandene Gemisch wurde 3 h gerührt und über Nacht stehen gelassen. Am darauffolgenden Tag wurden weiße Amidkristalle abfiltriert, mit kaltem Wasser gewaschen und bei 40-45°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Ausbeute 19,7 g (158 mMol, 92 %), Schmp. 158°C.

10

15 h) 5-Methyl-3-cyanofuran

20

25

Zu einer Suspension aus 19,7 g (158 mMol) 5-Methylfuran-3-carbonsäureamid in 100 ml Benzol wurden 32,9 g Phosphor(V)-chlorid in kleinen Mengen bei 30-40°C gegeben. Das entstandene Gemisch wurde bis zur Klärung (3,5-4 h) unter Rückfluß und unter Rühren belassen und anschließend unter verringertem Druck destilliert. Die Fraktion mit einem Sdp. von 79-140°C/15 mm Hg wurde gesammelt. Die zweite Destillation ergab 12,7 g (119 mMol, 75 %) der Titelverbindung, Sdp. 79-80°C/15 mm Hg.

i) 5-Brommethyl-3-furancarbonitril

30

35

Es wurden 12,7 g (119 mMol) 5-Methyl-3-cyanofuran in 100 ml Tetrachlorkohlenstoff gelöst, und 22 g (122 mMol) NBS und 12 g (73 mMol) AIBN wurden zugegeben. Das entstandene Gemisch wurde unter gründlichem Rühren auf 70°C erhitzt, als die exotherme Reaktion begann. Nach Beendigung der Wärmedefreisetzung wurde das Reaktionsgemisch 3 h bei 80°C gerührt, dann auf Raumtemperatur gekühlt, das entstandene Succinimid wurde abfiltriert und auf dem Filter mit Tetrachlorkohlenstoff (2x15 ml) gewaschen.

40

45

Das Lösungsmittel wurde bei verringertem Druck entfernt, und der Rückstand wurde im Vakuum destilliert, wobei 12,7 g (86 mMol, 57%) 5-Brommethyl-3-furancarbonitril, Sdp. 105°C/1 mm Hg, erhalten wurden. Gemäß ¹H-NMR-Spektrum enthält es Verunreinigungen, die bei δ 1,3 und 2,2 ppm Signale erzeugen. Nach der zweiten Destillation war ihr Gehalt zufriedenstellend niedriger, jedoch wurden etwa 15 % des Produktes eingebüßt. 5-Brommethyl-3-furancarbonitril ist eine weiße kristalline Substanz, Schmp. 40-45°C. ¹H-NMR (CDCl₃, ppm): 4,41 (2H, CH₂),

6,58 (1H, H4), 7,92 1H, H2); ¹³C-NMR (CDCl₃, ppm): 20,86 (CH₂), 99,03 (CN oder weniger wahrscheinlich C3), 109,97 (C4), 112,27 (C3 (oder CN)), 149,84 (C2), 152,32 (C5).

- 5 Das Reaktionsprodukt ist stark reizend und muß deshalb mit äußerster Vorsicht gehandhabt werden.

10 Die Synthese von 5-N,N-Bis(tert.-butoxycarbonyl)amino-methyl-3-cyanofuran erfolgte analog zur Synthese des 5-N,N-Bis(tert.-butoxycarbonyl)aminomethyl-2-cyanofurans. Die anschließende Abspaltung der tert.-Butoxycarbonylgruppen wurde in einer gesättigten Lösung von Chlorwasserstoff in Chloroform durchgeführt.

15 2-Amidino-5-(N-Boc-aminomethyl)-1-methylpyrrol Hydroacetat

a) 5-Cyano-1-methylpyrrol-2-carbaldehyd

20 1-Methylpyrrol kann durch Umsetzung mit Chlorsulfonyliso-cyanat und Dimethylformamid in Acetonitril in 2-Cyano-1-methylpyrrol überführt werden (siehe z.B. C.E. Loader et al. Can. J. Chem. (1981), 59, 2673-6).

25 Diisopropylamin (17,5 ml, 124,38 mmol) wurde unter Stickstoff in THF (100 ml) vorgelegt. Bei -78°C wurde n-Butyllithium-lösung in Hexan (15%ig, 75,9 ml, 124,38 mmol) zugetropft. Anschließend wurde 45 min bei -20°C gerührt und dann wieder auf -78°C abgekühlt. Bei dieser Temperatur wurde eine Lösung von N-Methylpyrrol-2-carbonitril (12 g, 113,07 mmol) in THF (50 ml) zugetropft. Nach 45 min Rühren bei -78°C wurde DMF (43,9 ml, 546,46 mmol) zugetropft und weitere 2 h bei dieser

30 Temperatur gerührt. Nach Zusatz von Zitronensäuremonohydrat (20,56 g) wurde auf Raumtemperatur erwärmt und mit Wasser (112 ml) versetzt. Das THF wurde abrotiert, die wässrige Phase wurde mit Natriumchlorid gesättigt und mit Diethylether (3 x 200 ml) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abrotiert und das Rohprodukt mittels Flashchromatographie gereinigt (Kieselgel, Dichlormethan). Ausbeute: 8,25 g (54 %).

40 ¹H-NMR (CDCl₃) δ = 4,1 (s, 3H), 6,8 (d, 1H), 6,9 (d, 1H), 9,7 (s, 1H).

b) 5-Hydroxymethyl-1-methylpyrrol-2-carbonitril

45 Das gemäß a) erhaltene Produkt (8,2 g, 61,1 mmol) wurde in Ethanol (200 ml) gelöst und bei -10°C mit Natriumborhydrid (2,31 g, 61,13 mmol) versetzt. Nach 1,5 h Rühren bei 0-5°C

wurde das Lösungsmittel abrotiert und der Rückstand mit Eiswasser und 20 %iger Natriumhydrogensulfatlösung versetzt. Die wässrige Phase wurde mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser neutral gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abrotiert und das Rohprodukt mittels Flashchromatographie gereinigt (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol=97.5/2.5). Ausbeute: 7,6 g (91%).

¹H-NMR (CDCl₃) δ = 1,9 (t, 1H), 3,75 (s, 3H), 4,6 (d, 2H), 6,1 (d, 1H), 6,7 (d, 1H).

c) 5-Azidomethyl-1-methylpyrrol-2-carbonitril

Das gemäß b) erhaltene Produkt (7,5 g, 55,08 mmol) wurde in DMF (220 ml) gelöst und bei 0°C mit Triphenylphosphin (43,34 g, 165,25 mmol) versetzt. Nach 5 min Rühren bei dieser Temperatur wurde Tetrabrommethan (54,8 g, 165,25 mmol) zugegeben. Anschließend wurde 30 min bei 0°C und 1,5 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abkühlen auf 0°C wurde mit Natriumazid (4,37 g, 67,21 mmol) versetzt. Anschließend wurde 4,5 h bei Raumtemperatur gerührt. Bei 0°C wurde gesättigte Natriumchloridlösung zugetropft und der Ansatz mit Essigsäureethylester verdünnt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abrotiert und das Rohprodukt mittels Flashchromatographie gereinigt (Kieselgel, Essigsäureethylester/Hexan=1/20). Ausbeute: 5,6 g (63 %).

¹H-NMR (CDCl₃) δ = 3,75 (s, 3H), 4,35 (s, 2H), 6,2 (d, 1H), 6,7 (d, 1H).

d) 5-Aminomethyl-1-methylpyrrol-2-carbonitril

Das gemäß c) erhaltene Produkt (4,71 g, 29,25 mmol) wurde in Methanol (100 ml) gelöst und mit Palladium auf Kohle (10 %ig, 1 g) versetzt. Anschließend wurde 4 h unter 1 Atmosphäre mit Wasserstoff hydriert. Der Katalysator wurde über Celite® abfiltriert und das Filtrat einrotiert. Der Rückstand wurde mit Dichlormethan/Diethylether = 1/1 ausgerührt. Das Produkt wurde abgesaugt und im Vakuumtrockenschrank bei 35°C getrocknet. Ausbeute: 2,7 g (68%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ = 3,75 (s, 3H), 3,85 (s, 2H), 6,05 (d, 1H), 6,7 (d, 1H).

e) 5-(N-Boc-Aminomethyl)-1-methylpyrrol-2-carbonitril

5

Das gemäß d) erhaltene Produkt (2,7 g, 19,97 mmol) wurde in Dichlormethan (50 ml) gelöst und mit Triethylamin (2,8 ml, 19,97 mmol) versetzt. Anschließend wurde eine Lösung von Di-tertärbutyldicarbonat (4,36 g, 19,97 mmol) in Dichlormethan (30 ml) zugetropft. Nach 2 h Rühren bei Raumtemperatur wurde mit Wasser versetzt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und einrotiert. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in die folgende Reaktion eingesetzt. Ausbeute: 4,4 g (94 %).

10

15

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ = 1,45 und 1,55 (jeweils s, zusammen 9H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (d, 2H), 4,7 (sbr, 1H), 6,05 (d, 1H), 6,7 (d, 1H).

20

f) 5-(N-Boc-Aminomethyl)-1-methylpyrrol-2-hydroxyamidin

25

Das gemäß e) erhaltene Produkt (4,3 g, 18,27 mmol) wurde in Methanol/Dichlormethan (100 ml, 1/1) gelöst und mit Hydroxylaminhydrochlorid (3,17 g, 45,61 mmol) versetzt. Anschließend wurde Ethyldiisopropylamin (19,1 ml, 109,65 mmol) bei Raumtemperatur zugetropft. Nach 12 h Rühren bei 40°C wurde das Lösungsmittel abrotiert, der Rückstand mit Wasser versetzt, mit Essigsäure auf pH 5 angesäuert und mit Dichlormethan und Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und einrotiert. Das Rohprodukt wurde mittels Flashchromatographie gereinigt (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol = 95/5). Ausbeute: 3,4 g (69%).

30

35

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ = 1,4 (s, 9H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (d, 2H), 4,7-4,9 (m, 3H), 6,05 (d, 1H), 6,3 (d, 1H), 7,3 (sbr, 1H).

g) 2-Amidino-5-(N-Boc-aminomethyl)-1-methylpyrrol Hydroacetat

40

Das gemäß f) erhaltene Produkt (3,4 g, 12,67 mmol) wurde in Methanol (150 ml) gelöst und mit Essigsäure (1,45 ml, 25,31 mmol) und Raney-Nickel (421 mg) versetzt. Anschließend wurde 5 h bei 50°C unter 1 Atmosphäre Wasserstoff hydriert. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der Katalysator über Celite® abfiltriert und das Filtrat eingeeengt. Das

45

so erhaltene Produkt wurde ohne weitere Reinigung in die folgende Reaktion eingesetzt. Ausbeute: 3,7 g (94%).

FAB-MS ($M+H^+$): 253.

5

2-Amidino-4-(N-Boc-aminomethyl)-1-methylpyrrol Hydroacetat

a) 5-Cyano-1-methylpyrrol-3-carbaldehyd

10

Aluminiumtrichlorid (24,24 g, 180,86 mmol) wurde in Nitromethan/Dichlormethan (1/1, 320 ml) gelöst, auf -20°C gekühlt und mit 1-Methylpyrrol-2-carbonitril (8 g, 75,36 mmol) versetzt. Anschließend wurde α,α -Dichlordimethylether (10,4 g, 90,43 mmol) gelöst in Dichlormethan (42 ml) zugetropft. Nach

15

4 h Rühren bei 0°C wurde der Ansatz auf Eis gegossen (200 g). Die wässrige Phase wurde mit Diethylether extrahiert. Die

20

vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung neutral gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel abrotiert. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in die folgenden Reaktionen eingesetzt. Ausbeute: 9,2 g (91 %).

25

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ = 3,8 (s, 3H); 7,2 (s, 1H); 7,4 (s, 1H); 9,85 (s, 1H).

b) 4-Aminomethyl-1-methylpyrrol-2-carbonitril wurde ausgehend von 5-Cyano-1-methylpyrrol-3-carbaldehyd analog der Synthese für 5-Aminomethyl-1-methylpyrrol-2-carbonitril dargestellt. Die Reduktion des 4-Azidomethyl-1-methylpyrrol-2-carbonitrils erfolgte jedoch vorteilhafter Weise über eine Staudinger Reaktion (s. z.B. S. Nagarajan et al. J. Org. Chem. 1987, 52, 5044-6).

30

c) 2-Amidino-4-(N-Boc-aminomethyl)-1-methylpyrrol Hydroacetat wurde ausgehend von 4-Aminomethyl-1-methylpyrrol-2-carbonitril analog der Synthese von 2-Amidino-5-(N-Boc-aminomethyl)-1-methylpyrrol Hydroacetat dargestellt.

40

FAB-MS ($M+H^+$): 253.

45

4-Amidino-2-(N-Boc-aminomethyl)-1-methylpyrrol Hydroacetat

a) 4-Cyano-1-methylpyrrol-2-carbaldehyd

5 1-Methylpyrrol-2-carbaldehyd (10 g, 91,6 mmol) wurde in
Acetonitril (100 ml) gelöst und auf -45°C gekühlt. Chlorsul-
fonylisocyanat (38,9 g, 274,9 mmol) in Acetonitril (40 ml)
wurde über 40 min zugetropft. Anschließend wurde 12 h bei
Raumtemperatur gerührt. Nach tropfenweiser Zugabe von
10 Dimethylformamid (35 ml) wurde 1 h auf 50°C erwärmt. Nach
Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch auf
Eis (200 ml) und 2N Natronlauge (286 ml) gegeben. Der
gebildete Niederschlag wurde abgesaugt. Das Filtrat wurden
15 mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten Etherphasen
wurden mit verdünnter Natriumhydrogencarbonatlösung und
Wasser neutral gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet.
Das Lösungsmittel wurde im Wasserstrahlvakuum abdestilliert
und der Rückstand mit dem zuvor gewonnenen Niederschlag ver-
eint. Umkristallisation aus Petrolether ergab 4-Cyano-1-
20 methylpyrrol-2-carbaldehyd (4,3 g) (siehe z.B. C.E. Loader
et al. Can. J. Chem. (1981), 59, 2673-6)

1-H-NMR (CDCl₃) δ = 4,0 (s, 3H); 7,2 (s, 1H); 7,3 (s, 1H);
9,6 (s, 1H).

25 ¹³-C-NMR (CDCl₃) δ = 37,4; 94,1; 114,7; 125,8; 132,2; 135,8;
179,7.

b) 5-Aminomethyl-1-methylpyrrol-3-carbonitril wurde ausgehend
30 von 4-Cyano-1-methylpyrrol-2-carbaldehyd analog der Synthese
für 5-Aminomethyl-1-methylpyrrol-2-carbonitril dargestellt.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ = 3,6 (s, 3H), 3,8 (s, 2H), 4,2 (sbr, 2H),
6,4 (s, 1H), 7,6 (s, 1H).

35 c) 3-Amidino-5-(N-Boc-aminomethyl)-1-methylpyrrol Hydroacetat
wurde ausgehend von 5-Aminomethyl-1-methylpyrrol-3-carbo-
nitril analog der Synthese von 2-Amidino-5-(N-Boc-amino-
methyl)-1-methylpyrrol Hydroacetat dargestellt.

40 FAB-MS (M+H⁺): 253.

5-Aminomethyl-3-cyano-1,2,4-oxadiazol Hydrochlorid

a) N-Boc-5-Aminomethyl-3-cyano-1,2,4-oxadiazol

5 N-Boc-5-Aminomethyl-1,2,4-oxadiazol-2-carbonsäureethylester
(S. Borg et al. J. Org. Chem. 1995, 60, 3112-20) wurde in
Methanol (50 ml) gelöst. In diese Lösung wurde bei -10°C bis
RT Ammoniak bis zur vollständigen Umsetzung eingeleitet. Das
Lösungsmittel wurde abrotiert. Das so erhaltene Rohprodukt
10 wurde in Dichlormethan (70 ml) gelöst und bei -5°C mit Diiso-
propylethylamin (2,9 ml, 16,55 mmol) versetzt. Anschließend
wurde Trifluoressigsäureanhydrid (1,06 ml, 7,61 mmol) gelöst
in Dichlormethan (10 ml) zugetropft. Nach 1,5 h Rühren bei
0°C wurde der Ansatz mit Dichlormethan verdünnt, 2x mit
15 gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, 2x mit 5%iger
Zitronensäurelösung und 1x mit gesättigter Natriumchlorid-
lösung gewaschen und dann über Natriumsulfat getrocknet. Das
Lösungsmittel wurde abrotiert und das Rohprodukt chromato-
graphisch gereinigt (Kieselgel, Dichlormethan:Methanol =
20 97,5:2,5). Ausbeute: 1,2 g (80 %).

b) 5-Aminomethyl-3-cyano-1,2,4-oxadiazol Hydrochlorid

Das gemäß a) erhaltene Produkt (0,9 g, 4,0 mmol) wurde in
25 Dichlormethan (45 ml) gelöst und bei RT mit 4 M Salzsäure in
Dioxan (3,9 ml, 15,61 mmol) versetzt. Nach 16 h Rühren bei RT
wurde das Lösungsmittel abrotiert. Ausbeute: 645 mg (100 %).

1-H-NMR (DMSO-d₆) δ = 4.6 (s, 2H), 9.2 (s, 3H).
30

N-Methyl-5-aminomethyl-pyrazol-3-carbonsäureamid

a) N-Methyl-5-amido-pyrazol-3-carbonsäuremethylester

35 N-Methyl-3-methoxycarbonyl-pyrazol-5-carbonsäurechlorid (dar-
gestellt aus 3,7 g, 20,09 mmol N-Methyl-3-methoxycarbonyl-
3-carbonsäure, J. Org. Chem. 1989, 54, 428) wurde in Toluol
gelöst und auf -10°C gekühlt. Anschließend wurde bei -10°C bis
0°C Ammoniak bis zur vollständigen Umsetzung eingeleitet. Das
40 Lösungsmittel wurde abrotiert. Der Rückstand wurde in Ethanol
aufgenommen. Nach 15 min Rühren wurde das Ethanol abrotiert,
der Rückstand in warmen Wasser gelöst und durch Abkühlen auf
0°C gefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Aceton
gewaschen und im Vakuum bei 45°C getrocknet. Ausbeute: 1,5 g
45 (41 %).

b) N-Methyl-5-cyano-pyrazol-3-carbonsäuremethylester

Das gemäß a) erhaltene Produkt (1,5 g, 8,19 mmol) wurden in Dichlormethan (20 ml) aufgenommen. Bei -10°C wurde mit Diisopropylethylamin (3,85 ml, 22,11 mmol) versetzt und bei dieser Temperatur eine Lösung von Trifluoressigsäureanhydrid (1,3 ml, 9,44 mmol) in Dichlormethan (5 ml) über 45 min zugetropft. Anschließend wurde noch 1 h bei 0°C gerührt. Der Ansatz wurde mit Dichlormethan verdünnt, 2x mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, 2x mit 5 %iger Zitronensäurelösung und 1x mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel abrotiert. Ausbeute: 1,35 g (100 %).

EI-MS (M⁺): 165.

c) N-Methyl-5-cyano-pyrazol-3-carbonsäureamid

Das gemäß b) erhaltene Produkt (1,35 g, 8,19 mmol) wurde in Methanol (50 ml) vorgelegt und auf -10°C gekühlt. Anschließend wurde über 8 h Ammoniak eingeleitet. Nach 12 h Rühren bei RT hatte das Edukt abreagiert. Das ausgefallene Produkt wurde abgesaugt, mit kaltem Methanol gewaschen und im Vakuum getrocknet. Ausbeute: 1,22 g (100 %).

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ = 4.0 (s, 3H), 7.4 (s, 1H), 7.5 (s, 1H), 7.8 (s, 1H).

d) N-Methyl-5-aminomethyl-pyrazol-3-carbonsäureamid

Das gemäß c) erhaltene Produkt (0,4 g, 2,66 mmol) wurde in Essigsäure (30 ml) gelöst und mit 10 % Palladium auf Kohle (78 mg) versetzt. Anschließend wurde bei RT unter Normaldruck bis zum vollständigen Umsatz hydriert. Der Katalysator wurde über Celite® abfiltriert und das Lösungsmittel abrotiert. Ausbeute: 0,4 g (100 %).

EI-MS (M⁺): 154.

Beispiel 1: N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(2-amidino)-thienylmethylanid-hydroacetat

a) 3,4-Dehydroprolyl-5-(2-cyano)-thienylmethylanid:

Boc-3,4-Dehydroprolin (5 g, 23,4 mmol) und 5-Aminomethyl-2-cyanothiophen-hydrochlorid (4,5 g, 25,8 mmol) wurden in Dichlormethan (25 ml) gelöst und bei 0°C mit Ethyldiiso-

- propylamin (28 ml, 163,8 mmol) mit einer 50 %igen Lösung von Propanphosphonsäureanhydrid in Essigsäureethylester (24,8 ml, 117 mmol) versetzt. Nach 1 h Rühren bei 0°C wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 12 h bei Raumtemperatur nachgerührt.
- 5 Die Reaktionsmischung wurde mit Dichlormethan verdünnt, mit Natriumhydrogensulfatlösung (4x), Natriumhydrogencarbonatlösung (3x) und gesättigter Natriumchloridlösung (1x) gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat und Abfiltrieren des Trockenmittels wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahl-
- 10 vakuum abdestilliert. Der Rückstand wurde zur Abspaltung der Boc-Gruppe in Dichlormethan (95 ml) versetzt, bei Raumtemperatur gerührt, zur Trockne eingedampft, zweimal mit Dichlormethan kodestilliert, erneut eingeeengt und säulen-
- 15 chromatographisch gereinigt. Man erhielt 6,6 g des gewünschten Produktes welches noch leicht lösungsmittelhaltig war.
- b) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(2-cyano)-thienylmethylanid:
- 20 t-BuO₂C-CH₂-Boc-(D)-Cha-OH (7,3 g, 18,98 mmol) und H-Pyr-NH-CH₂-5-(2-CN)-thioph-hydrochlorid (5,12 g, 18,98 mmol) wurden in Dichlormethan (100 ml) gelöst und mit Ethyldiisopropylamin (12,26 g, 94,9 mmol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0°C gekühlt und tropfenweise mit einer 50 %igen Lösung von
- 25 Propanphosphonsäureanhydrid in Essigsäureethylester (20 ml) versetzt. Nach 3 h Rühren bei 0 - 10°C wurde mit Dichlormethan (100 ml) verdünnt und mit verd. Natriumhydrogensulfatlösung (3x), gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (2x) und Wasser (1x) gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat
- 30 wurde das Lösungsmittel nach Abtrennung des Trockenmittels im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Man erhielt 12,47 g eines leicht bräunlichen Öls.
- c) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(2-amidothiocarbonyl)-thienyl-
- 35 methylanid:
- Das gemäß b) erhaltene Produkt wurde in Pyridin (70 ml) und Triethylamin (12 ml) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf
- 40 0°C gekühlt und mit Schwefelwasserstoff gesättigt (die Lösung färbte sich grün). Anschließend wurde 48 h bei Raumtemperatur nachgerührt. Der überschüssige Schwefelwasserstoff wurde mit Stickstoff verdrängt und das Lösungsmittel im Wasserstrahl-
- 45 vakuum abdestilliert. Der Rückstand wurde in Diethylether (200 ml) gelöst, mit verdünnter Natriumhydrogensulfatlösung (2x), gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (2x) und Wasser (1x) gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat

wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Das Rohprodukt (12,6 g) wurde mittels Flashchromatographie (Kieselgel, Gradient von Dichlormethan bis Dichlormethan : Methanol = 40 : 1) gereinigt. Man erhielt 12,1 g des gewünschten Produktes, welches noch leicht lösungsmittelhaltig war.

d) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen) - (N-Boc) - (D) - cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(2-S-methylimidocarbonyl) - thienylmethylamid-hydroiodid:

Das gemäß c) erhaltene Produkt wurde in Dichlormethan (120 ml) gelöst und mit Methyljodid (16,24 g, 114,38 mmol) versetzt. Nach 12 h Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Man erhielt 14,6 g eines gelblichen Öls.

e) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen) - (N-Boc) - (D) - cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(2-amidino) - thienylmethylamid-hydroacetat.

Das gemäß d) erhaltene Rohprodukt wurde in Acetonitril (90 ml) gelöst und mit Ammoniumacetat (2,94 g, 38,12 mmol) versetzt. Nach 2 h Rühren bei Raumtemperatur und 1,5 h bei 40°C wurde mit 10 %iger Ammoniumacetatlösung in Methanol (14,65 g, 19,05 mmol) versetzt. Man rührte noch 4,5 h bei 50°C und destillierte das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum ab. Der Rückstand wurde mit Dichlormethan versetzt, die Salze abgesaugt und das Filtrat eingengt. Der Rückstand wurde über einen Ionentauscher (Fluka, Bestell-Nr. 00402) in das Acetat-Salz überführt, wodurch man 11,15 g eines gelblichen Öls erhielt.

f) N-(Hydroxycarbonyl-methylen) - (D) - cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(2-amidino) - thienylmethylamid-hydroacetat

Das gemäß e) erhaltene Produkt wurde in Dichlormethan (175 ml) gelöst und tropfenweise mit etherischer Salzsäurelösung (38,3 ml) versetzt. Nach 2 h Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Der Rückstand wurde mit Dichlormethan versetzt und das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert (2x). Das Rohprodukt (9,35 g) wurde über einen Ionenaustauscher (Fluka, Bestell-Nr. 00402) und anschließende Flashchromatographie (Kieselgel, Gradient von Dichlormethan : Methanol : 4 : 1 über Dichlormethan : Methanol : 50 %ige Essigsäure : 40 : 10 : 2 bis Dichlormethan : Methanol : 50 %ige Essig-

säure = 35 : 15 : 5) gereinigt. Das so erhaltene Produkt wurde in Wasser gelöst. Man filtrierte von unlöslichen Bestandteilen ab und lyophilisierte das Filtrat. Dabei fielen 5,55 g als amorpher weißer Feststoff an.

5

FAB-MS ($m+H^+$): 462

Analog Beispiel 1 wurden hergestellt:

10 Beispiel 2:

N-(Hydroxycarbonyl-ethylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(2-amidino)-thienylmethyamid-hydroacetat

15 FAB-MS ($M+H^+$): 476

Die Darstellung erfolgte ausgehend von N-(tert.-Butoxycarbonyl-ethylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanin und 3,4-Dehydroprolyl-5-(2-cyano)-thienylmethyamid über mehrere Stufen analog Bei-

20 spiel 1.

Beispiel 3:

25

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycyl-3,4-dehydroprolyl-5-(2-amidino)-thienylmethyamid-hydroacetat:

FAB-MS ($M+H^+$): 448

30

Die Darstellung erfolgte ausgehend von N-(tert.-Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylglycin und 3,4-Dehydroprolyl-5-(2-cyano)-thienylmethyamid über mehrere Stufen analog Beispiel 1.

Beispiel 4:

35

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(2-amidino-3,4-dimethyl)-thienylmethyamid-hydroacetat:

FAB-MS ($M+H^+$): 490

40

45

Die Darstellung erfolgte ausgehend von 5-Aminomethyl-3,4-dimethyl-thiophen-2-carbonsäureamid durch Kupplung mit Boc-3,4-dehydroprolin zu Boc-3,4-dehydroprolyl-5-(2-carbamoyl-3,4-dimethyl)-thienylmethyamid analog Beispiel 1. Nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppe wurde dieser Baustein mit N-(tert.-Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanin analog Beispiel 1

gekuppelt. Die Dehydratisierung der Amid zur Nitrilfunktion wurde folgendermaßen durchgeführt:

4,8 g (7,42 mmol) N-(tert. Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-
5 (D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(2-carbamoyl-3,4-
dimethyl)-thienylmethyl-amid wurden in 60 ml Methylenchlorid
gelöst, mit 3,83 g (29,64 mmol) Diisopropylethylamin versetzt
und auf 0°C abgekühlt. Dazu tropfte man 2,8 g Trifluoressigsäure-
anhydrid in 3 ml Methylenchlorid langsam zu und rührte zwei Stun-
10 den bei 0-5°C nach. Danach wurde mit 60 ml Methylenchlorid ver-
dünnt und die Reaktionsmischung nacheinander dreimal mit 20 ml
20 %iger Zitronensäure, zweimal mit 20 ml gesättigter Natrium-
hydrogencarbonatlösung, zweimal mit gesättigter Kochsalzlösung
gewaschen, die Methylenchloridphase über Natriumsulfat getrocknet
15 und im Vakuum einrotiert. Man erhielt 5,35 g noch lösungsmittel-
haltiges N-(tert.-Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclo-
hexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(2-cyano-3,4-dimethyl)-thienyl-
methyramid, welches direkt in die nachfolgende Stufe eingesetzt
wurde.

20

Die Umsetzung der Nitrilfunktion in die Amidgruppe und die
anschließende Schutzgruppenabspaltung erfolgte in Analogie zu
Beispiel 1.

25 Beispiel 5:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydro-
prolyl-5-(3-amidino)-thienylmethyramid-hydroacetat:

30 FAB-MS (M+H⁺): 462

Die Darstellung erfolgte analog Beispiel 1, wobei anstelle von
5-Aminomethyl-2-cyanothiophen-hydrochlorid 5-Aminomethyl-3-cyano-
thiophen-hydrochlorid eingesetzt wurde.

35

Beispiel 6:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydro-
prolyl-4-(2-amidino)-thienylmethyramid-hydroacetat:

40

FAB-MS (M+H⁺): 462

Die Darstellung erfolgte analog Beispiel 1, wobei anstelle von
5-Aminomethyl-2-cyanothiophen-hydrochlorid 4-Aminomethyl-2-cyano-
45 thiophen-hydrochlorid eingesetzt wurde.

Beispiel 7a:

N- (Hydroxycarbonyl-methylen) - (D) -cyclohexylalanyl- (D) -4,5-dehydropipecolyl-5- (2-amidino) -thienylmethyamidhydroacetat:

5

FAB-MS (M+H⁺): 476

Beispiel 7b:

10 N- (Hydroxycarbonyl-methylen) - (D) -cyclohexylalanyl-4,5-dehydropipecolyl-5- (2-amidino) -thienylmethyamidhydroacetat

FAB-MS (M+H⁺): 476

15 Die Darstellung erfolgte analog Beispiel 1, wobei anstelle von Boc-3,4-Dehydroprolin racemische Boc- (D,L) -4,5-dehydropipecolinsäure eingesetzt wurde. Auf der Stufe N- (tert. Butoxycarbonylmethylen) - (N-Boc) - (D) -cyclohexylalanyl- (D,L) -4,5-dehydropipecolyl-5- (2-cyano) -thienylmethyamid konnten die beiden
20 diastereomeren Verbindungen mittels Chromatographie (Kieselgel, Cyclohexan/Essigester 7:3) getrennt werden. Beide Diastereomere wurden anschließend analog Beispiel 1 in die Endprodukte überführt.

25 Beispiel 8:

N- (Hydroxycarbonyl-methylen) - (D) -cyclohexylglycyl-3,4-dehydropipecolyl-5- (3-amidino) -thienylmethyamid-hydroacetat:

30 FAB-MS (M+H⁺): 448

Die Darstellung erfolgte analog Beispiel 1, wobei von den Edukten 5-Aminomethyl-3-cyanothiophen und N- (tert.butoxycarbonylmethylen) -N-Boc- (D) -cyclohexylglycyl-3,4-dehydroprolin ausgegan-
35 gen wurde.

Beispiel 9:

N- (Hydroxycarbonyl-methylen) - (D) -cyclohexylglycyl-3,4-dehydropipecolyl-4- (2-amidino) -thienylmethyamid-hydroacetat:

40

FAB-MS (M+H⁺): 448

Die Darstellung erfolgte analog Beispiel 1, wobei von den Edukten
45 4-Aminomethyl-2-cyanothiophen und N- (tert.butoxycarbonylmethylen) -N-Boc- (D) -cyclohexylglycyl-3,4-dehydroprolin ausgegangen wurde.

Beispiel 10:

N- (Hydroxycarbonyl-methylen) - (D) -cyclohexylalanyl-3,4-dehydro-
prolyl-5- (2-amidino) -furanylmethylamid-hydroacetat:

5

FAB-MS (M+H⁺): 446

Die Darstellung erfolgte analog Beispiel 1, wobei anstelle von
5-Aminomethyl-2-cyanothiophen-hydrochlorid 5-Aminomethyl-2-cyano-
10 furan-hydrochlorid eingesetzt wurde.

Beispiel 11:

N- (Hydroxycarbonyl-ethylen) - (D) -cyclohexylalanyl-3,4-dehydro-
15 prolyl-5- (2-amidino) -furanylmethylamid-hydroacetat:

FAB-MS (M+H⁺): 460

Die Darstellung erfolgte analog Beispiel 1, wobei anstelle von
20 5-Aminomethyl-2-cyanothiophen-hydrochlorid 5-Aminomethyl-2-cyano-
furan-hydrochlorid eingesetzt wurde.

Beispiel 12:

25 N- (Hydroxycarbonyl-methylen) - (D) -cyclohexylglycyl-3,4-dehydro-
prolyl-5- (2-amidino) -furanylmethylamid-hydroacetat:

FAB-MS (M+H⁺): 432

30 Beispiel 13:

N- (Hydroxycarbonyl-methylen) - (D) -cyclohexylalanyl-3,4-dehydro-
prolyl-5- (3-amidino) -furanylmethylamid-hydroacetat:

35 FAB-MS (M+H⁺): 446

Beispiel 14:

40 N- (Hydroxycarbonyl-methylen) - (D) -cyclohexylalanyl-3,4-dehydro-
prolyl-5- (2-amidino-1-methyl)pyrrolmethylamid Hydrochlorid:

a) 5- (N-Boc-Aminomethyl) -1-methylpyrrol-2-amidin Hydroacetat
(1,5 g, 4,4 mmol) wurde in Isopropanol (70 ml) gelöst, mit
45 isopropanolischer Salzsäure (5,5 M, 4,5 ml, 24,0 mmol)
versetzt und 2 h auf 50°C erwärmt. Nach Abkühlen auf Raum-
temperatur wurde das Lösungsmittel abrotiert und der Rück-

stand zu einer Lösung von $t\text{-BuO}_2\text{C-CH}_2\text{-(Boc)-(D)-Cha-Pyr-OH}$ in DMF (50 ml) gegeben. Die Lösung wurde auf 0°C gekühlt und mit N-Methylmorpholin (1,92 ml, 17,44 mmol) versetzt. Anschließend wurde TOTU (1,18 g, 3,58 mmol) portionsweise zugegeben. Nach 45 min Rühren bei 0°C wurde das Lösungsmittel abrotiert und das Rohprodukt mittels MPLC gereinigt (RP-18, Acetonitril/Wasser). Ausbeute: 980 mg (45%).

FAB-MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 615.

10

b) Das gemäß a) erhaltene Produkt (550 mg, 0,845 mmol) wurde in Dichlormethan (50 ml) gelöst und die Lösung bei $0\text{-}5^\circ\text{C}$ mit HCl-Gas gesättigt. Anschließend wurde 1,5 h bei 0°C gerührt. Das Lösungsmittel wurde abrotiert und das Rohprodukt lyophilisiert. Ausbeute: 450 mg (100%).

15

FAB-MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 459.

Beispiel 15:

20

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-2-(4-amidino-1-methyl)pyrrolmethyamid Hydrochlorid wurde analog Beispiel 14 dargestellt.

25

FAB-MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 459.

Beispiel 16:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-4-(2-amidino-1-methyl)pyrrolmethyamid Hydrochlorid wurde analog Beispiel 14 dargestellt.

30

FAB-MS ($\text{M}+\text{H}^+$): 459.

35

Beispiel 17:

N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-2-(4-amidothiocarbonyl)oxazolmethyamid Hydrochlorid:

40

a) $t\text{-BuO}_2\text{C-CH}_2\text{-(Boc)-(D)-Cha-Pyr-OH}$ (2,36 g, 4,92 mmol) wurde in Dichlormethan (60 ml) gelöst. Bei -10°C wurde Diisopropylethylamin (4,3 ml, 24,59 mmol) zugetropft. Nach 5 min Rühren bei dieser Temperatur wurde 2-Aminomethyl-oxazol-4-thiocarbamid Hydrochlorid (1g, 5,16 mmol, G. Videnov et al. Angew. Chem. 1996, 108, 1604-9, die Boc-Gruppe des in dieser

45

Literaturstelle beschriebenen N-Boc-2-Aminomethyloxazol-4-thiocarbamid wurde mit etherischer Salzsäure gespalten und das korrespondierende Hydrochlorid durch Einengen erhalten) zugegeben und anschließend eine 50%ige Lösung von Propanphosphonsäureanhydrid in Essigsäureethylester (5,06 ml, 6,39 mmol) verdünnt mit Dichlormethan (10 ml) über 20 min zugetropft. Nach 1 h Rühren bei 0°C wurde für 3 h auf RT erwärmt. Der Ansatz wurde mit Dichlormethan verdünnt, 2x mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, 2x mit 5%iger Zitronensäurelösung und 1x mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abrotiert und das Rohprodukt chromatographisch gereinigt (Kieselgel, Dichlormethan:Methanol = 95:5). Ausbeute: 2,5 g (82 %).

15

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ = 0.5-2.0 (m, 31H), 3.1-5.5 (m, 8H), 5.8-6.2 (m, 2H), 8.5-9.3 (m, 3H), 9.8 (sbr, 1H).

b) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-2-(4-amidino)oxazolmethyramid Hydroacetat:

20

Das gemäß a) erhaltene Produkt wurde in Aceton (50 ml) gelöst, mit Methyljodid (1,97 ml, 31,29 mmol) versetzt und 2 h unter Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel und das überschüssige Methyljodid wurde abrotiert. Das so erhaltene Rohprodukt wurde in Tetrahydrofuran (50 ml) gelöst, mit Ammoniumacetat (466 mg, 6,05 mmol) versetzt und 1,5 h auf 60°C erwärmt. Das Lösungsmittel wurde abrotiert und das Rohprodukt mittels eines Ionentauschers (Acetat auf polymerem Träger, Fluka 00402) ins Acetat überführt, das anschließend chromatographisch gereinigt wurde (Kieselgel, Dichlormethan:Methanol:Essigsäure = 75:20:5). Ausbeute: 2,0 g (75 %).

25

30

35

FAB-MS (M+H⁺): 603.

c) N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-2-(4-amidino)oxazolmethyramid Hydrochlorid:

40

Das gemäß b) erhaltene Produkt (1,95 g, 2,94 mmol) wurde in Dichlormethan (50 ml) gelöst und mit 4 M Salzsäure in Dioxan (3,7 ml, 14,71 mmol) versetzt. Nach 20 h Rühren bei RT wurde das Lösungsmittel abrotiert, das Rohprodukt in Wasser gelöst und lyophilisiert. Ausbeute 1,5 g (100 %).

45

¹³H-NMR (DMSO-d₆) δ = 168.6, 167.8, 166.2, 162.2, 156.4, 144.7, 129.6, 127.7, 125.5, 67.9, 55.0, 53.5, 45.3, 36.4, 35.7, 33.0, 32.5, 32.0, 25.7, 25.4, 25.2.

5 Beispiel 18:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydropropyl-5-(3-amidino)-1,2,4-oxadiazolmethyamid Hydrochlorid:

- 10 a) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydropropyl-5-(3-cyano)-1,2,4-oxadiazolmethyamid

15 N-(t-BuO₂C-CH₂)-N-Boc-(D)-Cha-Pyr-OH (1,93 g, 4,0 mmol) wurde in Dichlormethan (65 ml) gelöst und bei -10°C mit Diisopropylethylamin (3,1 ml, 17,67 mmol) versetzt. Anschließend wurde 5-Aminomethyl-3-cyano-1,2,4-oxadiazol Hydrochlorid (645 mg, 4,0 mmol) gelöst in Dichlormethan (30 ml) zugegeben. Nach 5 min Rühren wurde eine 50 %ige Lösung von Propanphosphonsäureanhydrid in Essigsäureethylester (3,9 ml, 4,93 mmol) 20 verdünnt mit Dichlormethan (15 ml) über 30 min zugetropft. Nach 1 h bei 0°C wurde der Ansatz mit Dichlormethan verdünnt, 2x mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, 2x mit 5 %iger Zitronensäurelösung und 1x mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat 25 wurde das Lösungsmittel abrotiert und das Rohprodukt chromatographisch gereinigt (Kieselgel, Dichlormethan: Methanol = 95:5). Ausbeute: 1,55 g (71 %).

FAB-MS (M+H⁺): 587.

30

- b) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydropropyl-5-(3-amidino)-1,2,4-oxadiazolmethyamid Hydroacetat

35 Das gemäß a) erhaltene Produkt (1,5 g, 2,56 mmol) wurde in Methanol (5 ml) gelöst und mit Acetylcystein (450 mg, 2,76 mmol) versetzt. Anschließend wurde bei 35°C Ammoniak bis zur vollständigen Umsetzung eingeleitet. Das Lösungsmittel wurde abrotiert und das Rohprodukt mittels eines Ionen- 40 austauschers (Acetat auf polymerem Träger, Fluka 00402) ins Acetat überführt. Das so erhaltene Rohprodukt wurde chromatographisch gereinigt (RP-18, Acetonitril, Wasser). Ausbeute: 300 mg (18 %).

45

FAB-MS (M+H⁺): 604.

- c) N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(3-amidino)-1,2,4-oxadiazolmethyamid Hydrochlorid

5 Das gemäß b) erhaltene Produkt (300 mg, 0,45 mmol) wurde in Dichlormethan (20 ml) gelöst und bei Raumtemperatur mit 4 M Salzsäurelösung in Dioxan (0,6 ml, 2,48 mmol) versetzt. Nach 20 h Rühren bei RT wurde das Lösungsmittel abrotiert, das Produkt in Wasser gelöst und lyophilisiert. Ausbeute: 230 mg (98%).

FAB-MS (M+H⁺): 448.

Beispiel 19:

- 15 N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(3-amidino-N-methyl)pyrazolmethyamid Hydrochlorid:

- 20 a) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(3-amido-N-methyl)-pyrazolmethyamid

25 N-(t-BuO₂C-CH₂)-N-Boc-(D)-Cha-Pyr-OH (1,25 g, 2,59 mmol) wurde in Dichlormethan (30 ml) vorgelegt. Bei -10°C wurde Diisopropylethylamin (1,95 ml, 11,16 mmol) zugetropft. Anschließend wurde eine Lösung von N-Methyl-5-aminomethyl-pyrazol-3-carbonsäureamid (0,4 g, 2,59 mmol) in Tetrahydrofuran (20 ml) zugegeben. Nach 5 min Rühren wurde eine 50 %ige Propanphosphonsäureanhydrid Essigsäureethylesterlösung (2,36 ml, 3,11 mmol) und Dichlormethan (5 ml) innerhalb von 5 min zuge-

30 tropft. Nach 45 min Rühren bei 0°C wurde für 12 h auf RT erwärmt. Das Lösungsmittel wurde abrotiert, der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und 2x mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, 2x mit 5%iger Zitronensäurelösung und 1x mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen.

35 Nach Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel abrotiert. Das Rohprodukt wurde chromatographisch gereinigt (RP-18, Acetonitril, Wasser). Ausbeute: 220 mg (14 %).
FAB-MS (M+H⁺): 617.

- 40 b) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(3-cyano-N-methyl)-pyrazolmethyamid

45 Das gemäß a) erhaltene Produkt (220 mg, 0,36 mmol) wurde in Dichlormethan (15 ml) gelöst und bei -10°C mit Diisopropylethylamin (0,17 ml, 0,96 mmol) versetzt. Nach 5 min Rühren wurde eine Lösung von Trifluoressigsäureanhydrid (0,057 ml, 0,41 mmol) in Dichlormethan (1 ml) zugetropft. Nach 1 h bei

0°C wurde mit Dichlormethan verdünnt, 2x mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, 2x mit 5 %iger Zitronensäurelösung und 1x mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel abrotiert. Ausbeute: 180 mg (84 %).

c) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(3-amidino-N-methyl)-pyrazolmethyramid Hydroacetat

10

Das gemäß b) erhaltene Produkt (180 mg, 0,3 mmol) wurde in Methanol (1 ml) gelöst und mit Acetylcystein (52,8 mg, 0,32 mmol) versetzt. Anschließend wurde bei 35°C Ammoniak bis zur vollständigen Umsetzung eingeleitet. Das Lösungsmittel wurde abrotiert und das Rohprodukt mittels eines Ionenaustauschers (Acetat auf polymerem Träger, Fluka 00402) ins Acetat überführt. Das Rohprodukt wurde chromatographisch gereinigt (RP-18, Acetonitril, Wasser). Ausbeute: 50 mg (16 %).

20

FAB-MS (M+H⁺): 616.

d) N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(3-amidino-N-methyl)pyrazolmethyramid Hydrochlorid

25

Das gemäß c) erhaltene Produkt (50 mg, 0,081 mmol) wurde in Dichlormethan (5 ml) gelöst und mit 5 M Salzsäure in Diethylether (0,147 ml) versetzt. Nach 12 h Rühren bei RT wurde das Lösungsmittel abrotiert das Produkt in Wasser aufgenommen und lyophilisiert. Ausbeute: 40 mg (92 %).

30

FAB-MS (M+H⁺): 460.

Beispiel 20:

35

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(3-amidino)-isoxazolmethyramid-hydrochlorid:

Die Darstellung erfolgte ausgehend von 5-Aminomethylisoxazol-3-carbonsäureamid und BOC-3,4-dehydroprolin. Nach Kupplung und Abspaltung der BOC-Schutzgruppe wurde der erhaltene Baustein mit N-(tert.Butoxycarbonylmethylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanin zu N-(tert.Butoxycarbonylmethylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(3-carbamoyl)isoxazolmethyramid verknüpft. Nach der Dehydratisierung des primären Amids zur Nitrilfunktion analog Beispiel 4 erfolgte die Amidinbildung wie nachfolgend beschrieben.

45

N- (tert.Butoxycarbonylmethylen) - (N-Boc) - (D) -cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5- (3-amidino) -isoxazolmethyamid-hydroacetat:

1,75 g (3,0 mmol) N- (tert.Butoxycarbonylmethylen) - (N-Boc) - (D) -cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5- (3-cyano) -isoxazolmethyamid wurden in 10 ml Methanol gelöst, mit 0,54 g (3,28 mmol) N-Acetylcystein versetzt und unter Durchleiten von gasförmigem Ammoniak 4 h unter Rückfluß erhitzt. Die Abtrennung von N-Acetylcystein, die Reinigung des Produktes und die Überführung in das Acetat-Salz erfolgte mittels MPL-Chromatographie (RP-18, Acetonitril/Wasser/0,1 m Essigsäure). Nach Gefriertrocknung wurden 1,39 g als weißes Pulver erhalten (70 % der Theorie).

Die Entschüttung des gereinigten Produktes mit etherischer Salzsäure in Methylenchlorid ergab die Titelverbindungen

FAB-MS (M+H⁺): 448.

Beispiel 21:

20

N- (Hydroxycarbonyl-methylen) - (D) -cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-2- (4-amidino) -thiazolmethyamid-hydroacetat

FAB-MS (M+H⁺): 463.

25

Die Darstellung erfolgte analog Beispiel 1, wobei von den Edukten 2-Aminomethyl-thiazol-4-thiocarboxamid und N-Boc-N- (tert.butyl-oxy-carbonylmethylen) - (D) -cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolin ausgegangen wurde.

30

Beispiel 22:

N- (Hydroxycarbonyl-methylen) - (D) -cyclohexylglycyl-3,4-dehydroprolyl-2- (4-amidino) -thiazolmethyamid-hydrochlorid

35

FAB-MS (M+H⁺): 449.

Beispiel 23:

40 N- (Hydroxycarbonyl-methylen) - (D) -cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-4- (2-amidino) -thiazolmethyamid-hydroacetat

FAB-MS (M+H⁺): 463.

45

Die Darstellung erfolgte analog Beispiel 1, wobei von den Edukten 4-Aminomethyl-thiazol-2-thiocarboxamid und N-(tert.butoxy-carbonyl-methylen)-N-Boc-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolin ausgegangen wurde.

5

Beispiel 24:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycyl-3,4-dehydroprolyl-4-(2-amidino)-thiazolmethyramid-hydroacetat

10

FAB-MS (M+H⁺): 449.

Die Darstellung erfolgte analog Beispiel 1, wobei von den Edukten 4-Aminomethyl-thiazol-2-thiocarboxamid und N-(tert.butoxy-carbonyl-methylen)-N-Boc-(D)-cyclohexylglycyl-3,4-dehydroprolin ausgegangen wurde.

15

Beispiel 25:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-2-(5-amidino)-thiazolmethyramid-hydroacetat

20

FAB-MS (M+H⁺): 463.

25 Die Darstellung erfolgte analog Beispiel 21

Beispiel 26:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycyl-3,4-dehydroprolyl-2-(5-amidino)-thiazolmethyramid-hydroacetat

30

FAB-MS (M+H⁺): 449.

Die Darstellung erfolgte analog Beispiel 22.

35

Beispiel 27:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-5-(2-amidino)-thiazolmethyramid-hydroacetat

40

FAB-MS (M+H⁺): 463.

Die Darstellung erfolgte analog Beispiel 23.

45

Beispiel 28:

N- (Hydroxycarbonyl-methylen) - (D) -cyclohexylglycyl-3,4-dehydro-
prolyl-5- (2-amidino) -thiazolmethyramid-hydroacetat

5

FAB-MS (M+H⁺): 449.

Die Darstellung erfolgte analog Beispiel 24.

10

15

20

25

30

35

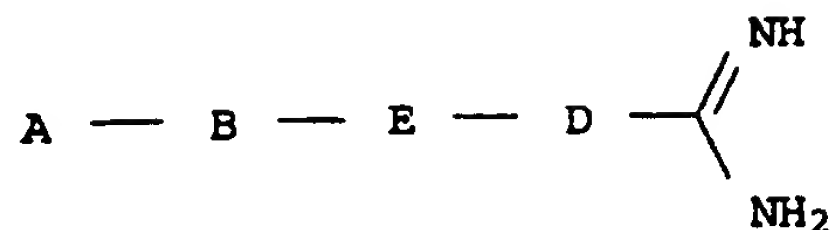
40

45

Patentansprüche

1. Verbindungen der Formel I

5

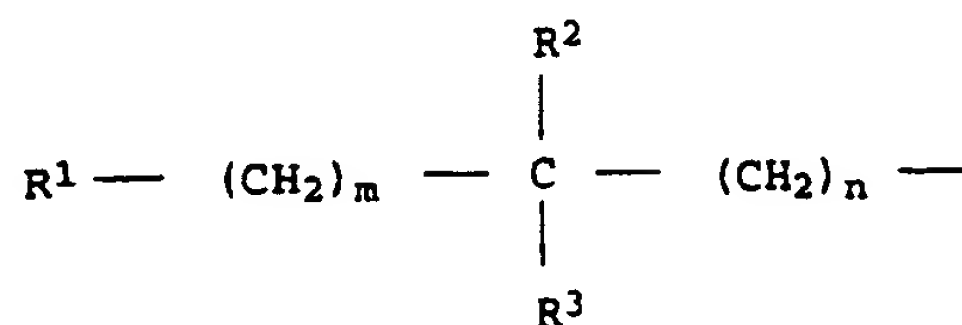


10

worin A, B, D und E folgende Bedeutung besitzen:

A:

15



20

worin

m 0, 1 oder 2,

n 0, 1 oder 2,

R¹ HOOC-, C₁₋₆-Alkyl-OOC-, Aryl-C₁-C₄-Alkyl-OOC oder -OH,

25

R² H-, C₁₋₄-Alkyl- oder R¹-(CH₂)_m-,

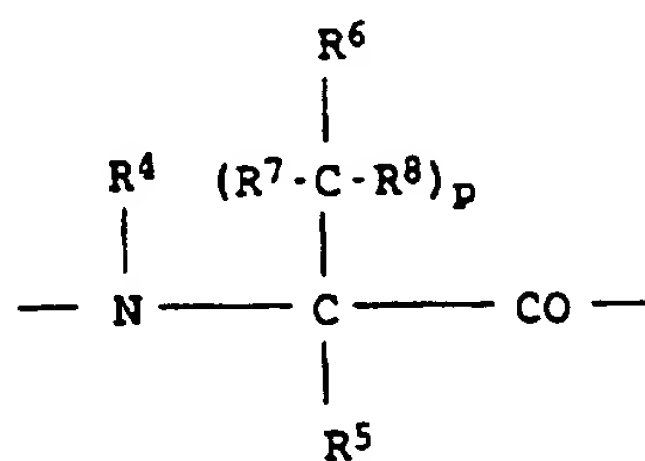
R³ H- oder C₁₋₄-Alkyl-,

darstellen,

30

B:

35



worin

40

R⁴ H-, C₁₋₄-Alkyl- oder R¹-(CH₂)_m- (wobei R¹ und m die oben angegebene Bedeutung besitzen),

p 0 oder 1,

R⁵ H- oder C₁₋₄-Alkyl-,

45

R⁶ H-, C₁₋₈-Alkyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder verschiedene Reste der Gruppe C₁₋₄-Alkyl-, CF₃-, C₁₋₄-Alkoxy-, F- oder Cl- tragen kann, C₃₋₈-Cycloalkyl-,

welches bis zu vier gleiche oder verschiedene C₁₋₄-Alkyl-
reste tragen kann oder wobei eine oder zwei C-C-Einfach-
bindungen im Ring durch eine C=C-Doppelbindung ersetzt
sein können, oder ein Phenylring ankondensiert sein kann,
C₇₋₁₂-Bicycloalkyl- oder C₁₀-Tricycloalkyl- oder

R⁴ und R⁶ zusammen eine Ethylen- oder Propylengruppe,

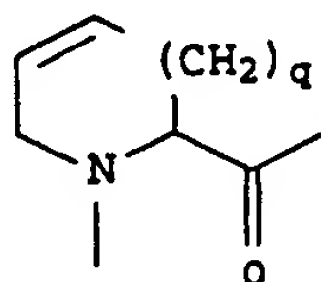
R⁷ H, C₁₋₈-Alkyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder
verschiedene Reste der Gruppe C₁₋₄-Alkyl-, CF₃-,

C₁₋₄-Alkoxy-, F- oder Cl- tragen kann, C₃₋₈-Cycloalkyl-,

welches bis zu vier gleiche oder verschiedene C₁₋₄-Alkyl-
reste tragen kann,

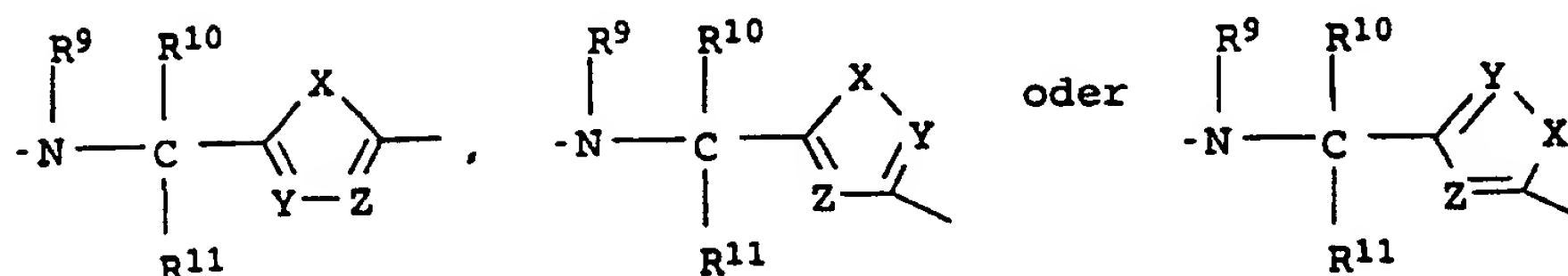
R⁸ H oder C₁₋₄-Alkyl,

E:



q = 0 oder 1

D:



worin

R⁹ H- oder C₁₋₃-Alkyl-,

R¹⁰ H- oder C₁₋₄-Alkyl-,

R¹¹ H- oder C₁₋₄-Alkyl-,

X O, S, -NR¹² (R¹² = H-, C₁₋₆-Alkyl-),

Y -N= oder -CR¹³= (R¹³ = H-, C₁₋₄-Alkyl-), Cl, CF₃,

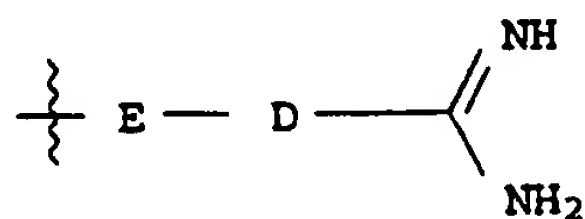
Z -N= oder -CR¹³= bedeuten,

sowie deren Salze mit physiologisch verträglichen Säuren.

2. Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1 zur Verwendung bei
der Bekämpfung von Krankheiten.

3. Verwendung der Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1 zur
Herstellung von Arzneimitteln gegen:

- Krankheiten, deren Pathomechanismus direkt oder indirekt auf der proteolytischen Wirkung von Thrombin beruht,
 - Krankheiten, deren Pathomechanismus auf der thrombinabhängigen Aktivierung von Rezeptoren und Signaltransduktionen beruht,
 - Krankheiten, die mit Stimulation oder Inhibition von Genexpressionen in Körperzellen einhergehen,
 - Krankheiten, die auf der mitogenen Wirkung von Thrombin beruhen,
 - Krankheiten, die auf einer thrombinabhängigen Kontraktilitäts- und Permeabilitätsveränderung von Epithelzellen beruhen,
 - thrombinabhängige, thromboembolische Ereignisse,
 - disseminierte intravasale Koagulation,
 - Reokklusion und zur Verkürzung der Reperfusionzeit bei Komplikation mit Thrombolytika,
 - das Auftreten von früher Reokklusion und später Restenosierung nach PTCA,
 - die thrombinabhängige Proliferation von Glatt-muskelzellen,
 - die Akkumulation aktiven Thrombins im ZNS,
 - das Tumorwachstum sowie gegen die Adhäsion und Metastasierung von Tumorzellen.
4. Verwendung der Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1 zur Herstellung von Arzneimitteln gegen:
- Krankheiten, deren Pathomechanismus direkt oder indirekt auf der proteolytischen Wirkung von Kinninogenasen, insbesondere Kallikrein beruht,
 - Entzündungskrankheiten wie Asthma, Pankreatitis, Rhinitis, Arthritis, Urticaria und anderen inneren Krankheiten, bei denen Kallikrein eine Rolle spielt.
5. Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1 zur Beschichtung von Oberflächen.
6. Verbindungen enthaltend ein strukturelles Fragment der Formel



45

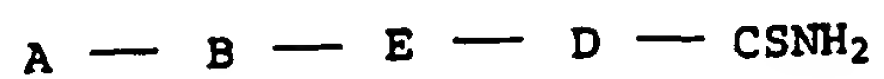
worin E und D die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung besitzen.

7. Verbindungen der Formel IIa und IIb



IIa,,

5



IIb,

10 worin die Reste A, B, E und D die in Anspruch 1 angegebene
Bedeutung besitzen.

15

20

25

30

35

40

45

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. al Application No

PCT/EP 97/04104

A. CLASSIFICATION F SUBJECT MATTER
IPC 6 C07K5/06 A61K38/05

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 672 658 A (LILLY CO ELI) 20 September 1995 see example 65 -----	1-7



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 October 1997

Date of mailing of the international search report

06. 11. 97

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Deffner, C-A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 97/04104

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0672658 A	20-09-95	AU 1975295 A	18-09-95
		CA 2183464 A	09-08-95
		FI 963451 A	03-09-96
		HU 76330 A	28-08-97
		NO 963684 A	28-10-96
		WO 9523609 A	08-09-95

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. Aktenzeichen

PCT/EP 97/04104

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 C07K5/06 A61K38/05

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr
X	EP 0 672 658 A (LILLY CO ELI) 20.September 1995 siehe Beispiel 65 -----	1-7



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

9. Oktober 1997

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

06. 11. 97

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Deffner, C-A

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internat. Aktenzeichen

PCT/EP 97/04104

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0672658 A	20-09-95	AU 1975295 A	18-09-95
		CA 2183464 A	09-08-95
		FI 963451 A	03-09-96
		HU 76330 A	28-08-97
		NO 963684 A	28-10-96
		WO 9523609 A	08-09-95
